

**EFFECTO DEL MÉTODO DE OBTENCIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES DEL MATERIAL  
COMPUESTO HAP-PVDF**



DUVÁN MEJÍA VALDÉS

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN

DEPARTAMENTO DE FÍSICA

POPAYÁN

2023



**EFFECTO DEL MÉTODO DE OBTENCIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES DEL MATERIAL  
COMPUESTO HAP-PVDF**

**Duván Mejía Valdés**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Físico**

**Directora**

**Dra. Claudia Fernanda Villaquirán Raigoza**

**Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Materiales Cerámicos (CYTEMAC)**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN**

**DEPARTAMENTO DE FÍSICA**

**POPAYÁN**

**2023**



## Nota de aceptación

---

---

---

---

---

Dra. Claudia Fernanda Villaquirán  
Directora

---

Dra. Sonia Gaona Jurado  
Jurado

---

Dr. Diego Mauricio Sandoval  
Jurado

Popayán, 11 de octubre de 2023



## **Dedicatoria**

*A mi madre,*

*Mi amada Yolima, por ser la persona más importante en mi vida y por su apoyo incondicional a pesar de nuestras diferencias.*

*A mis hermanos,*

*Adrián y Alexander, gracias por las experiencias, consejos y sacrificios.*

*A mi directora,*

*Claudia Villaquiran, por su apoyo, palabras de aliento e intensas jornadas de trabajo.*

*Sin ustedes no hubiera llegado hasta aquí.*

*Con cariño,*

*Durán Mejía Valdés*



## **Agradecimientos**

A Dios, por la vida y por guiar mis pasos día a día.

A mi familia, mi mamá Yolima, mis hermanos Adrián y Alexander, por ser ese impulso en todo momento. A Fil, fiel compañero de 4 patas, compañero de desveladas y consuelo de momentos difíciles.

A mi directora, la Dra. Claudia Villaquiran, por toda su dedicación y disposición, por las extensas jornadas de trabajo, las celebraciones, despedidas y bienvenidas. Gracias por su exigencia, comprensión y paciencia para la realización de este trabajo. Profe, muchas gracias por su amistad.

A la Universidad del Cauca, por permitirme formarme en ella y terminar con éxito mi pregrado. A los profesores del departamento de Física y del programa de ingeniería física, quienes además de conocimientos me brindaron su amistad.

Al grupo y semillero de investigación en Ciencia y Tecnología De Materiales Cerámicos-CYTEMAC, en el cuál desarrollé este trabajo de investigación, además de conocer personas maravillosas como María Luisa y María Paula, con quienes además de la afinidad por los biomateriales, construí una valiosa amistad y fueron un apoyo moral importante para el desarrollo de este trabajo.

A Angie, Hamel, Diana, Alejandro, y demás compañeros, gracias por su amistad y compañerismo durante todo el tiempo compartido.

A la Universidad de Brasilia, al Laboratorio De Materiales Cerámicos y Nanoestructurados-“LMCNano” y al profesor Alysson Martins Almedida por la experiencia , donde además de realizar una estancia de investigación conocí personas maravillosas como Camila De Lima Riveiro, Amanda assunçao Rosa, Carlos Martins, Claudio Pereira, Rodrigo Nunes, Saulo Lucas, Caroline, Tomé, Manuela y Sabrina quienes me recibieron con brazos abiertos y con paciencia me entendían aunque no habláramos el mismo idioma, aprendí de ellos y ellos aprendieron de mí.

Gracias también a Karolyne Vilela de Oliveira del Laboratorio de Química Analítica-LEQA y a Iván del laboratorio de Microscopia electrónica de barrido del Campus Darcy Ribeiro.

A André Moreira, por mostrarme un poco de la cultura y belleza de su país, además de su hospitalidad, amistad y confianza durante mi estancia en Brasil.

Finalmente, a mí, por no rendirme y continuar, por ser esa persona persistente, luchadora y fuerte que con orgullo ahora puedo decir ¡lo logré, soy Ingeniero Físico!

# Tabla de contenido

<b>Resumen</b> .....	<b>13</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>15</b>
<b>Capítulo I Marco teórico</b> .....	<b>17</b>
1.1 Características de los huesos .....	20
1.2 Evolución de los biomateriales .....	22
1.2.1 Biomateriales de primera generación.....	22
1.2.2 Biomateriales de segunda generación.....	23
1.2.3 Biomateriales de tercera generación.....	23
1.2.4 Biomateriales de cuarta generación .....	24
1.3 Biomateriales compuestos.....	25
1.3.1 Hidroxiapatita (HAp).....	26
1.3.2 Fluoruro de polivinilideno (PVDF) .....	29
1.4 Obtención de materiales compuestos basados en HAp/PVDF.....	30
1.4.1 Molienda mecánica .....	30
1.4.2 Slip Casting.....	31
1.4.3 Prensado uniaxial .....	31
1.5 Técnicas de caracterización.....	32
1.5.1 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). .....	32
1.5.2 Difracción de rayos X.....	33
1.5.3 Análisis Williamson-Hall (W-H).....	34
1.5.4 Microscopia óptica.....	35
1.5.5 Microscopía electrónica de Barrido (SEM) con EDS.....	36
1.5.6 Análisis termogravimétrico (TGA).....	36
1.5.7 Microdureza .....	37
1.5.8 Microtomografía computarizada de rayos X-MicroCT .....	37
<b>Capítulo II Metodología</b> .....	<b>39</b>
2.1 Método de calcinación para obtención de HAp .....	41
2.2 Obtención de HAp híbrida por molienda mecánica .....	43
2.3 Obtención de polvos del compuesto HAp/PVDF por molienda mecánica .....	44
2.4 Fabricación de membranas HAp/PVDF.....	44

2.5	Fabricación de pastillas HAp/PVDF por prensado uniaxial .....	45
2.6	Caracterización de las muestras .....	45
2.6.1	Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) .....	46
2.6.2	Difracción de rayos X (DRX) .....	46
2.6.3	Microscopía óptica .....	46
2.6.4	Microscopía electrónica de barrido con EDS .....	46
2.6.5	Análisis termogravimétrico .....	47
2.6.6	Microtomografía de rayos X-MicroCT .....	47
<b>Capítulo III</b>	<b>Análisis y resultados .....</b>	<b>49</b>
3.1	Caracterización de la fuente natural de HAp .....	51
3.1.1	Análisis térmico .....	51
3.1.2	Espectroscopía infrarroja de la HAp obtenida a partir de hueso bovino y porcino .....	52
3.1.3	Difracción de rayos X .....	56
3.1.4	Microscopía electrónica con EDS .....	59
3.1.5	Sistemas formados por HAp-B y HAp-P .....	60
3.2	Caracterización de los polvos de PVDF .....	62
3.2.1	Espectroscopía infrarroja .....	63
3.2.2	Difracción de Rayos X .....	65
3.2.3	Microscopía electrónica de barrido .....	65
3.3	Compuestos HAp/PVDF .....	66
3.3.1	Caracterización del polvo de HAp/PVDF .....	66
3.3.2	Caracterización del compuesto HAp/PVDF conformado por slip casting .....	73
3.3.3	Caracterización del compuesto HAp/PVDF conformado en pastillas .....	77
<b>Capítulo V</b>	<b>Referencias .....</b>	<b>89</b>

## Resumen

Los biomateriales utilizados en regeneración ósea se encuentran en constante desarrollo, con el objetivo de replicar el comportamiento mecánico y la morfología del hueso. En este campo de investigación, el compuesto multifuncional formado por Hidroxiapatita (HAp) y fluoruro de polivinilideno (PVDF) ha surgido como un fuerte candidato para llenar algunos vacíos en aplicaciones biomédicas, puesto que combina la bioactividad de la HAp, con la piezoelectricidad del PVDF, además de ser biocompatible. El hueso posee propiedades piezoeléctricas que desempeñan un papel importante en la remodelación y adaptabilidad ósea, además de cumplir con funciones tales como: brindar soporte y ayuda al movimiento del cuerpo, regula los niveles de fósforo y calcio en el organismo, transmitir el sonido entre otras.

Este trabajo se enfocó en la obtención de compuestos HAp/PVDF mediante molienda mecánica, slip casting y prensado uniaxial; se utilizó HAp obtenida de huesos bovinos (HAp-B) y porcinos (HAp-P). Además, se obtuvo HAp combinando HAp-B/HAp-P en porcentajes 20/80, 50/50 y 80/20; fueron obtenidos compuestos en concentraciones HAp/PVDF de 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/85 y 30/70 en peso, con el fin de evaluar la influencia del porcentaje de HAp en las propiedades estructurales y microestructurales del material compuesto. Las muestras se caracterizaron mediante difracción de rayos X (DRX), espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis termogravimétrico (TGA), microdureza y microtomografía computarizada de rayos X (micro-CT). Los resultados permitieron evidenciar que a 650°C se obtiene HAp con Zn, Mg y Na como elementos traza a partir de huesos bovinos y porcinos, además, de una fase secundaria de fosfato tricálcico  $\beta$ . También se obtuvieron compuestos de HAp/PVDF en los cuales se potenció la formación de la fase electroactiva  $\beta$  del PVDF.



## Introducción

En la búsqueda de biomateriales para la regeneración ósea, la investigación está encaminada al desarrollo de nuevos biomateriales o a la modificación de los existentes, para lograr propiedades tales como la biocompatibilidad y la bioactividad, entre otras [1]. El tejido óseo puede autoregenerarse cuando hay un daño de tamaño pequeño, como una grieta o una pequeña fractura. Sin embargo, debido a la falta de vascularización<sup>1</sup> existe un umbral de tamaño crítico ( $\geq 2,5$  cm) a partir del cual la reparación ósea fisiológica no es suficiente para restaurar el tejido, lo que lleva a la necrosis y muerte celular en el sitio interno de la zona afectada [2]. Los traumatismos, las enfermedades degenerativas, los defectos congénitos y los factores asociados a tumores óseos pueden provocar defectos óseos graves, por lo que es importante acelerar la reparación y regeneración del tejido óseo mediante una intervención clínica. Dado que el trasplante de hueso autólogo y hueso xenogénico presentan bastantes limitaciones, el implante de biomateriales en áreas afectadas, para promover la reparación y la regeneración del tejido óseo, se ha convertido en el principal medio de tratamiento.

Los fosfatos de calcio bioactivos, como la hidroxiapatita ( $\text{HAp}-\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ), son usados en medicina y odontología, en implantes óseos y en reconstrucción y/o sustitución de tejido óseo [3]. De hecho, el uso de HAp ha aumentado notablemente, debido a la mejora en la calidad de vida que proporciona su aplicación en el reemplazo parcial o total de huesos fracturados.

El tejido óseo posee propiedades piezoeléctricas, lo que hace que un esfuerzo mecánico se convierta en un potencial eléctrico. El hueso, como material biológico, demuestra este efecto y es sensible a la carga mecánica. La investigación sobre el efecto piezoeléctrico en este campo es prometedora para mejorar el crecimiento y la reparación del tejido óseo, ya que se ha demostrado que la piezoelectricidad juega un papel crucial en la remodelación y regeneración ósea [4].

En el desarrollo de materiales para uso en regeneración ósea los compuestos polímero/cerámica, son una nueva alternativa, estos compuestos tienen la ventaja de ser moldeados en cualquier forma

---

<sup>1</sup>Se conoce como vascularización al proceso de formación y desarrollo de vasos sanguíneos en tejidos y órganos del cuerpo.

y obtenidos a temperaturas inferiores a 200°C. Además, pueden adaptarse para mostrar propiedades térmicas similares al hueso de forma más eficiente que los materiales metálicos. El uso de estos compuestos poliméricos se justifica por su elevada biocompatibilidad, propiedades mecánicas y propiedades multifuncionales que pueden utilizarse simultáneamente para mejorar el proceso de cicatrización. Teniendo en cuenta lo anterior, un polímero eléctricamente activo como la fase polar  $\beta$  del fluoruro de polivinilideno (PVDF), que además presenta propiedades piezoeléctricas, es un buen candidato para la formación de un compuesto polímero/cerámica. Los compuestos basados en PVDF suelen ser bioactivos y no tóxicos, y se han aplicado con éxito en la construcción de mallas para hernias y en la cicatrización de tejido óseo. El efecto piezoeléctrico inverso en el PVDF también se puede utilizar para estimular eficazmente el crecimiento óseo en la interfaz del implante óseo y se ha demostrado que es posible incorporar una cantidad de hidroxiapatita en la matriz del PVDF, formando un compuesto con uso potencial en aplicaciones médicas y dentales [5].

En este documento se detalla el proceso de obtención y caracterización de compuestos HAp/PVDF obtenidos a partir de HAp de huesos bovinos y porcinos. Para una mejor comprensión del desarrollo de este trabajo, en el capítulo 1 se encuentra los fundamentos teóricos básicos: una revisión conceptual sobre los biomateriales, generalidades de la HAp y del PVDF. Adicionalmente, se presentan los métodos de obtención, procesamiento y caracterización utilizados en este trabajo. En el capítulo 2 se describe la metodología seguida en el proceso de obtención y procesamiento de los polvos cerámicos y del material compuesto, también se describen las técnicas y equipos utilizados para la caracterización de los sistemas obtenidos. En el capítulo 3 se analizan los resultados de las caracterizaciones realizadas a las muestras de: (i) HAp obtenida de hueso bovino y porcino, (ii) PVDF y (iii) los materiales compuestos de HAp/PVDF. Finalmente, se presentan las conclusiones y las referencias utilizadas en el desarrollo de este trabajo de investigación.

# Capítulo I

Marco teórico



Los huesos son órganos vascularizados (contienen arterias, arteriolas y otras vías del sistema vascular y linfático) e inervados (una corriente eléctrica logra la activación de los movimientos, funciones y estructura) que están compuestos de tejido óseo, médula ósea y tejido conectivo; estos órganos cumplen funciones tales como el soporte de los músculos, la protección de los órganos internos, la producción de células sanguíneas, la autorregulación del calcio y la transmisión del sonido [6]. La fase mineral del hueso está compuesta principalmente por cristales de hidroxiapatita (HAP) [7, 8]. El hueso mostrado en la figura 1.1, contiene un 30% de segmentos orgánicos y 70% de segmentos inorgánicos; casi el 90% del segmento orgánico es colágeno y el 10% residual se compone de proteínas. se presenta una descripción gráfica de las generalidades del hueso [9, 10].

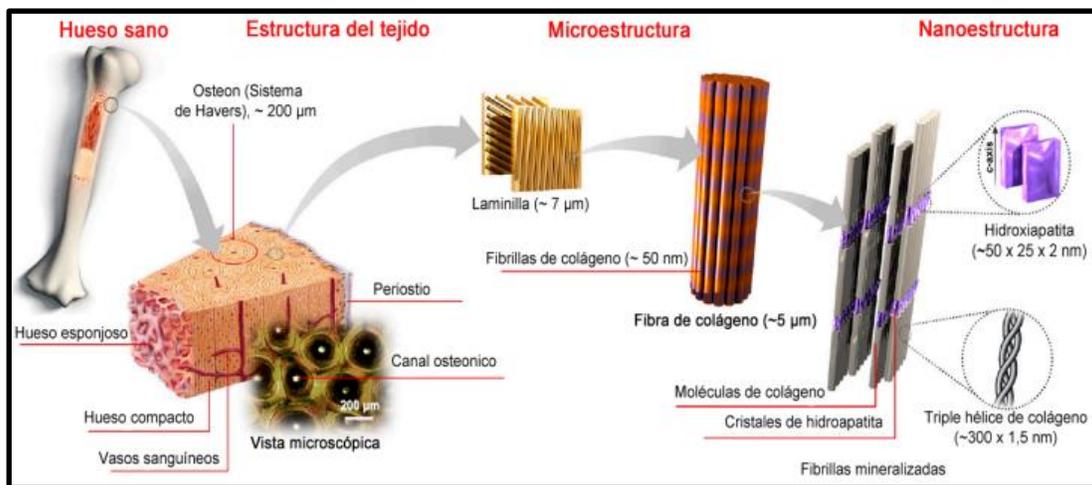


Figura 1.1 Estructura del hueso [11].

Los trastornos óseos degenerativos como la osteoporosis debilitan los huesos, hasta el punto de que incluso tensiones leves como agacharse, levantar un objeto o toser, pueden causar una fractura; esto conduce a una disminución en la calidad de vida debido al dolor intenso, la pérdida de movilidad y la disminución de la funcionalidad [12]. Es conocido que la osteoporosis y sus consecuencias aumentan exponencialmente con la edad [13]. De acuerdo con el censo establecido en 2011 en Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Guatemala, México, Nicaragua, Panamá, Perú, Uruguay y Venezuela, entre el 13 y 29% de la población son personas mayores de 50 años, y se predijo que para el año 2050 el porcentaje de personas mayores de 70 años alcanzaría un promedio de 28%, por tanto, los problemas de tipo óseo afectarán a la mayor parte de la población. Para dar solución a esta problemática, el avance en la ciencia de materiales

ha permitido el desarrollo de biomateriales fabricados de metales, cerámicas, polímeros y materiales compuestos, que han sido usados a través de décadas como sustitutos óseos. Estos materiales se modifican para que puedan adaptarse y suplir las propiedades mecánicas, biológicas y químicas específicas de los tejidos; sin embargo, estas opciones todavía tienen problemas asociados con la respuesta a cuerpos extraños y la integración deficiente con los tejidos del huésped, por lo que la búsqueda de nuevos materiales para aplicaciones biomédicas continúa vigente [14].

### **1.1 Características de los huesos**

El hueso es un tejido que mantiene en constante remodelación. La formación de tejido óseo se lleva a cabo por la proliferación de células osteoprogenitoras y la diferenciación en osteoblastos, responsables de la regulación, de la mineralización y producción de colágeno a través de proteínas funcionales como la osteocalcina y la fosfatasa alcalina [15]. A su vez, la cicatrización ósea requiere, tanto de una buena estabilidad mecánica y revascularización, como de procesos de osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción. La osteoinducción es el proceso mediante el cual las células primitivas son estimuladas para convertirse en el linaje de células formadoras de hueso, mientras que la osteoconducción es el proceso mediante el cual el hueso crece en una superficie, en los poros, canales o conductos [16]. El hueso es un material piezoeléctrico, ya que las corrientes eléctricas son responsables de la transducción del estrés mecánico en reacciones bioquímicas. La mecano-transducción, es un proceso biológico complejo a través del cual la carga mecánica aplicada al hueso se transforma en señalización bioquímica que regula la remodelación de tejido óseo; en este proceso, la configuración y polarización de canales iónicos y proteínas desarrollan un papel fundamental. En cuanto a las implicaciones de las corrientes eléctricas en los canales iónicos, se ha propuesto que la electroestimulación es capaz de aumentar la concentración local de  $\text{Ca}^{2+}$ , este aumento regula las funciones de los osteoblastos y modula una amplia gama de procesos biológicos involucrados en la regeneración ósea [17].

El hueso (figura 1.2), forma parte de los tejidos conjuntivos, siendo la mineralización una característica importante, puesto que le proporciona al hueso dureza, resistencia y protección al estrés mecánico; también lo convierte en una reserva de fosfato y calcio para el organismo [18]. Es necesario que el hueso se encuentre en continua remodelación para responder a diferentes

funciones como: (i) mantener el equilibrio fosfocálcico, (ii) favorecer la hematopoyesis en el adulto, (iii) sostener el aparato locomotor, (iv) equilibrar el estado hormonal y citocinico; esta remodelación se da gracias a la actividad conjunta de los osteoclastos, encargados de reabsorber el tejido óseo antiguo, y de los osteoblastos que sintetizan la nueva matriz ósea [19]. El hueso es el órgano más fuerte del cuerpo humano, la capa más externa del hueso está cubierta con periostio, y el hueso interno junto con la medula ósea son ricos en vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. El periostio desempeña un papel fundamental en el nacimiento, crecimiento, transformación, reparación y regeneración ósea, por lo que una pérdida importante de periostio conlleva a una regeneración anormal del tejido óseo, causando problemas y dificultades para la curación de fracturas [1].

Este proceso de auto regeneración ósea no contempla la reparación de defectos óseos de gran tamaño. Algunas terapias actuales para el tratamiento de estos defectos óseos son el autoinjerto, el aloinjerto, implantes metálicos e implantes cerámicos. Los sustitutos óseos comparables con el hueso fisiológica, química y biológicamente han sido foco de un gran trabajo de investigación y desarrollo, buscando alternativas a los inconvenientes asociados con los trasplantes óseos naturales [20]. Los sustitutos óseos actualmente se están desarrollando a partir de materias primas tanto naturales como sintéticas; tales sustitos son del tipo cerámicas de fosfato de calcio, biovidrios, vitrocerámicas bioactivas y polímeros biocompatibles, bioactivos y biodegradables [21].

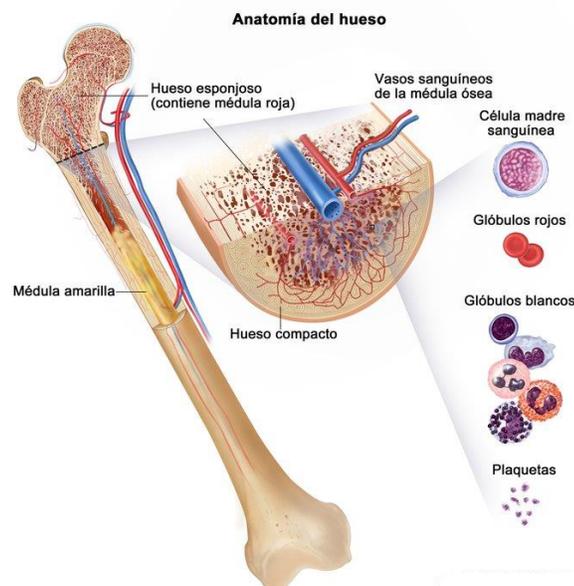


Figura 1.2 Anatomía del hueso [22].

## 1.2 Evolución de los biomateriales

Los biomateriales son sustancias naturales o sintéticas que ayudan a reparar, reemplazar o mejorar cualquier tejido u órgano del cuerpo, es decir, están destinados a interactuar con tejido vivo por lo que deben contar con ciertas propiedades, como lo son la no toxicidad, bioactividad, biodegradación, biocompatibilidad, entre otras [23]. El avance en ingeniería y regeneración de tejidos han mostrado el amplio potencial de los biomateriales para aplicaciones biomédicas que se han agrupado en cuatro generaciones teniendo en cuenta sus características funcionales, presentadas en la tabla 1.1.

### 1.2.1 Biomateriales de primera generación

Alrededor de 1960, surge el desarrollo de la primera generación de biomateriales, a fin de poder obtener una combinación de propiedades que imitaran al tejido reemplazado, con una respuesta tóxica muy baja para el huésped; estos biomateriales fueron denominados bioinertes, es decir, materiales que no interactúan con el tejido circundante, por lo que no estimulan el crecimiento y formación de hueso, dando como resultado la formación de tejido fibroso. Dentro de esta generación se encuentran metales como el titanio y aleaciones de titanio, acero inoxidable, aleaciones de cobalto-cromo, etc., polímeros sintéticos como el polimetacrilato de metilo y teflón y cerámicos como la alúmina y la circonia [24]. La primera generación de biomateriales presentó una serie de inconvenientes al ser incorporados en el tejido vivo, como: infecciones, desgaste, liberación de iones y toxicidad, causando efectos adversos y en muchas ocasiones hasta la muerte, siendo necesario continuar investigando formas de regenerar tejidos, es así como surge los biomateriales de segunda generación.

Tabla 1.1 Clasificación de biomateriales

Primera generación	Segunda generación	Tercera generación	Cuarta generación
• Materiales bioinertes	• Materiales bioactivos y bioreabsorbibles	• Materiales multifuncionales	• Materiales inteligentes

### 1.2.2 Biomateriales de segunda generación

En aras de dar solución a los problemas presentados por la primera generación de biomateriales, la segunda generación incluye polímeros biodegradables, naturales y sintéticos como el colágeno y el poliéster; fosfatos de calcio sintéticos o derivados de materias primas como corales, algas, hueso bovino y porcino, carbonato de calcio sintético o natural obtenido de cáscara de huevo, los sulfatos de calcio y vidrios bioactivos. El tener biomateriales derivados de la naturaleza puede ofrecer grandes beneficios en cuanto a la biocompatibilidad y biodegradabilidad, puesto que son componentes esenciales de los tejidos. Polímeros naturales como el colágeno y el ácido hialurónico pueden dar una guía de información biológica a las células conduciendo a una mejor unión celular, como también a una mejor respuesta quimiotáctica en comparación a los polímeros sintéticos. Sin embargo, pueden presentar inconvenientes como: la necesidad de procesos de purificación, respuesta inmunogénica, degradación, entre otros [25].

### 1.2.3 Biomateriales de tercera generación

Corresponde a los biomateriales que tienen como objetivo soportar y estimular la regeneración de tejidos utilizando células vivas y la funcionalización de superficies. Un ejemplo son los andamios de materiales poliméricos, que son polímeros generalmente modificados superficialmente con una configuración porosa y geometría determinada que favorecen de adhesión celular [26]. La funcionalización de superficies es un tema de gran interés en la ciencia de los materiales, en ese sentido, el recubrimiento de materiales inertes con biomoléculas es una de las herramientas más utilizadas para mejorar su compatibilidad (figura 1.3), puesto que la interfaz entre los biomateriales y el entorno fisiológico desempeña un rol muy importante en la eficiencia y rendimiento del biomaterial [27].

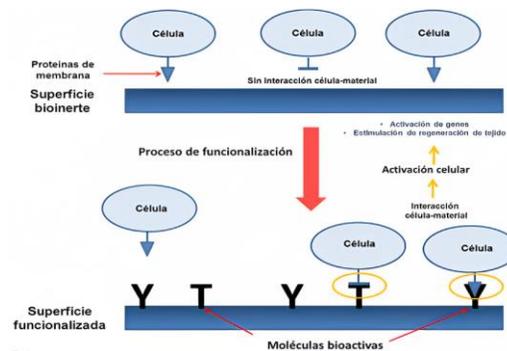


Figura 1.3 Interacción entre células y superficie funcionalizada [27].

#### 1.2.4 Biomateriales de cuarta generación

El desarrollo y la aplicación clínica de biomateriales durante los últimos años, ha tenido gran impacto en los campos de la medicina, ingeniería, biología y demás ramas implicadas en la búsqueda de soluciones a problemas humanos. Sin embargo, hasta ahora ningún biomaterial puede cumplir perfectamente con todos los requisitos necesarios para su función. El uso de metales como el titanio, níquel, cobalto, cromo y sus aleaciones en la fabricación de biomateriales satisfacen requerimientos de biocompatibilidad y osteointegración, además de poseer buenas propiedades mecánicas, resistencia a la corrosión, obtención y disponibilidad. No obstante, el principal problema que presentan los implantes metálicos corresponde al deterioro que presenta el hueso receptor, conllevando a una disminución en la tasa de osteointegración e infecciones centradas en el implante [27]. Los biomateriales que actúan eficazmente en sistemas biológicos, como en el tratamiento y curación de tejidos dañados o perdidos, deben ser capaces de imitar las propiedades de los tejidos naturales del organismo en sus diversos aspectos (químico, físico, mecánico y superficial). Estas características influyen en la adhesión y proliferación celular y son cruciales para el éxito del tratamiento [28]; en consecuencia, los investigadores han dirigido sus estudios al uso de biomateriales inteligentes para aumentar su funcionalidad [29]. Los biomateriales inteligentes pueden influir de manera positiva en la regeneración de tejidos haciendo uso de la estimulación física, química, eléctrica o magnética, partiendo de que la estimulación interna o externa de células madre a través del implante puede inducir la formación de nuevo tejido óseo, proceso conocido como osteogénesis, como se presenta en la figura 1.4 [31].

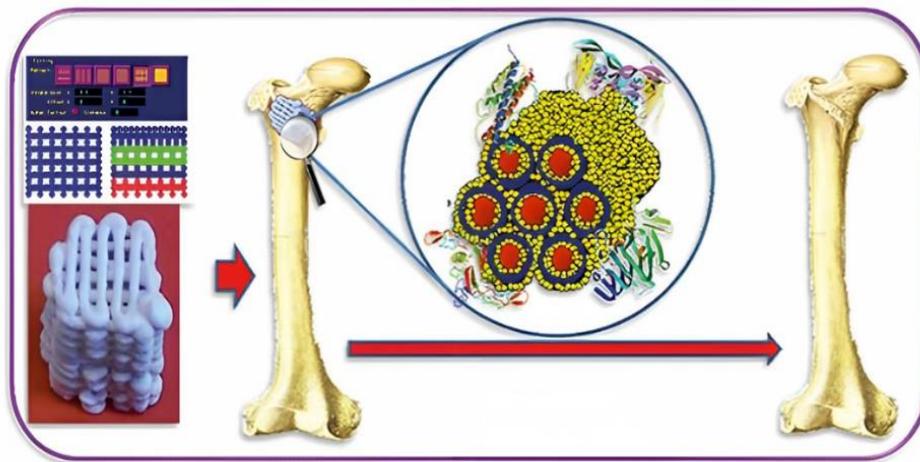


Figura 1.4. Regeneración ósea mediante biomateriales [30].

El aprovechamiento de las señales mencionadas en el desarrollo de nuevos biomateriales cumple un papel fundamental, sumado al desarrollo de nuevas tecnologías que permiten obtener biomateriales que imitan los naturales y consecuentemente comprender el mecanismo de muchos procesos biológicos. La biomimética, en la ciencia de materiales y la ingeniería de tejidos está centrada en imitar procesos biológicos naturales durante la síntesis para obtener estructuras y composiciones similares a los tejidos naturales; es decir, el desarrollo de los biomateriales de cuarta generación considera la naturaleza y su funcionamiento como referente para diseñar materiales que fomenten la regeneración de tejidos de la mejor manera posible [31].

### **1.3 Biomateriales compuestos**

El proceso de regeneración de tejidos está compuesto por tres etapas: respuesta inflamatoria, proliferación y diferenciación de células y finalmente la remodelación [32]. La reparación de tejidos requiere satisfacer las necesidades fisiológicas de los tejidos complejos, imponiendo a los biomateriales mayores requerimientos puesto que debe servir de enlace para mantener la homeostasis, además, adecuarse a cada etapa del proceso de regeneración [33]. En este sentido, los biomateriales convencionales carecen de características y funcionalidades que presenta el hueso natural [34], por lo que se hace necesario el uso de biomateriales inteligentes que al interactuar con las células y tejidos circundantes presenten características, propiedades y funcionalidad similar al tejido óseo natural. Las características de los biomateriales inteligentes incluyen efectos instructivos, inductivos, desencadenantes o estimulantes tanto en las células como en los tejidos que lo rodean [35].

Para obtener biomateriales inteligentes, los investigadores han recurrido al desarrollo de biomateriales compuestos, es decir, que son formados por la unión no química de dos o más materiales; dicha unión provee la combinación de las propiedades de los materiales que lo conforman dando lugar a múltiples funciones, convirtiéndose en una buena opción para la regeneración de tejido óseo [39]. Para satisfacer los requerimientos necesarios en medicina y traumatología es necesario obtener biomateriales revolucionarios que puedan brindar resultados rápidos y eficaces superando los disponibles actualmente. Lo anterior, se convierte en la razón para estudiar los biomateriales compuestos basados en la unión polímero/cerámica. En este trabajo de investigación se fabricarán compuestos piezoeléctricos/bioactivos a partir de Fluoruro de

Polivinilideno (PVDF) e Hidroxiapatita (HAp) natural; puesto que, de acuerdo con la literatura, los compuestos basados en PVDF son bioactivos y no tóxicos, además han sido utilizados previamente en aplicaciones biomédicas [5].

### 1.3.1 Hidroxiapatita (HAp)

La hidroxiapatita es una cerámica bioactiva con estructura química y propiedades similares a la del componente inorgánico de huesos y dientes. La HAp pertenece a la familia de las apatitas, cristales que se pueden describir mediante la fórmula  $A_{10}(BO_4)_6C_2$ , donde A es calcio, B fósforo y la posición C puede estar ocupada por iones de flúor, cloro o un ion hidróxido, recibiendo así el nombre de fluoroapatita, cloroapatita e hidroxiapatita, respectivamente. La HAp está compuesta esencialmente por calcio y fósforo, con una relación molar ideal Ca/P de 1,67; este fosfato cálcico tiene estructura hexagonal compacta (HCP) como se muestra en la figura 1.5, con parámetros de red  $a = b = 9,432 \text{ \AA}$  y  $c = 6,880 \text{ \AA}$  y una densidad teórica de  $3,16 \text{ g/cm}^3$  [36, 37]. La HAp obtenida a partir de fuentes naturales (hueso de mamíferos, escamas de pescado, conchas, plantas, fuentes minerales, entre otras.) contiene iones como magnesio, sodio, potasio, silicio, estroncio y hierro, lo que, sumado a su bajo costo de procesamiento la convierte en un material atractivo para la investigación y aplicaciones biomédicas. Además, se ha reportado que la HAp natural es más biodegradable que la sintética [34, 43]. La HAp tiene una amplia gama de aplicaciones, entre ellas: reconstrucción ósea [38], reparaciones de huesos faciales, prótesis ortopédicas [33], recubrimientos de prótesis metálicas [39], implantes dentales [40], prótesis de oído medio [41, 42], entre otras.

En 1920, Albee y Morrison investigaron la influencia de los fosfatos de calcio en la estimulación de la regeneración ósea, descubriendo que estimulaban la formación de hueso, este descubrimiento fue el inicio de un nuevo campo de conocimiento; la HAp sintética fue introducida por primera vez en la primera mitad del siglo XX por Barrett et al.; en 1993, Basle et al. analizaron los efectos de la HAp sintética y natural derivada del hueso bovino en la respuesta celular, revelando que la formación de hueso utilizando HAp natural era más rápida que con el uso de HAp sintética, lo que indicaba una mayor función de los osteoblastos [43].

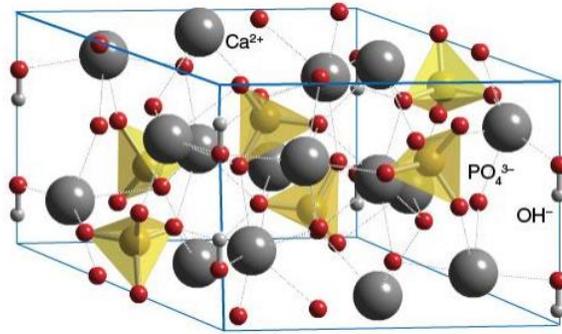


Figura 1.5. Estructura cristalina de la Hidroxiapatita [44].

La tendencia a obtener HAp a partir de fuentes naturales ha continuado hasta nuestros días, utilizando diversas fuentes naturales [45]; una de las potencialidades de la HAp de fuente natural es su contenido de diferentes iones (que no necesariamente están presentes en la HAp sintética), los cuales cumplen funciones en el organismo, algunas de las cuales se presentan en la tabla 1.2. La disponibilidad de estos iones en las fuentes naturales, así como su bajo costo de procesamiento y otros factores mostrados en la figura 1.6, convierte a las fuentes naturales en la opción preferida para materia prima en la obtención de HAp y posteriores aplicaciones biomédicas [45].

Tabla 1.2. Elementos traza y efectos biológicos de la HAp natural [43].

Elemento traza	Efectos biológicos
Zinc	Inhíbe la formación de células de osteoclastos
	Evita la osteoporosis y aumenta la angiogénesis
	Mejora la diferenciación de las células osteogénicas
Magnesio	Favorece la adhesión celular y mejora de la bioactividad.
	Estimula la diferenciación celular
Flúor	Estimula la actividad de los osteoblastos y evitar la osteoporosis
	Dificulta la proliferación de osteoclastos
	Mejora la fuerza y la resistencia a la corrosión
Silicio	Mejora la diferenciación celular y la propiedad mecánica
	Mejorar la diferenciación osteogénica
Estroncio	Ausencia de citotoxicidad
	Mejora la actividad y proliferación de los osteoblastos
	Promueve la adhesión celular, la proliferación y la actividad de la fosfatasa alcalina

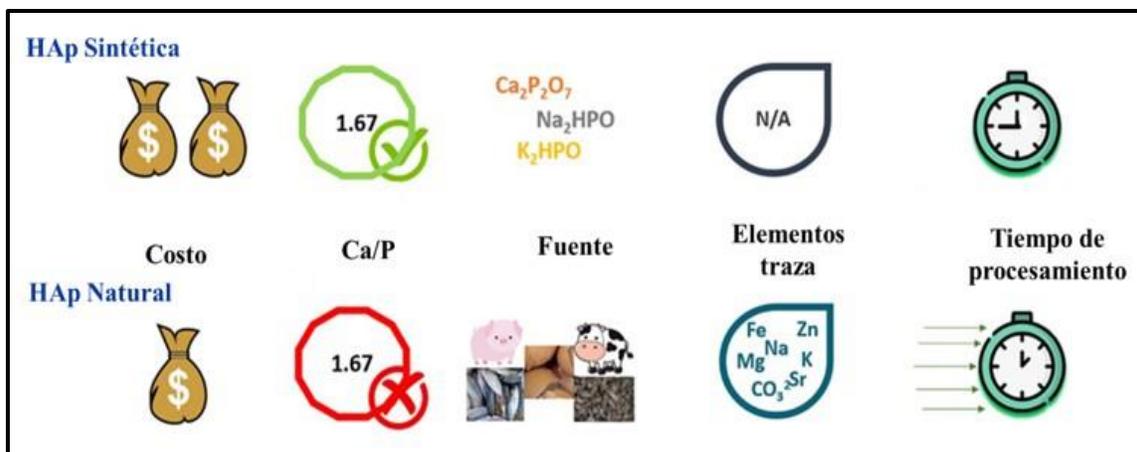


Figura 1.6. comparación entre HAp natural y HAp sintética [43].

### 1.3.1.1 Fuentes naturales de HAp

La HAp obtenida de huesos bovinos es deficiente en Ca, lo que genera cambios estructurales que repercuten en el rendimiento bioactivo y mecánico del hueso, incluyendo las propiedades biomiméticas [43, 45]. Según la literatura, la extracción de HAp de huesos de mamíferos se realiza mediante la calcinación a temperatura superior a 650°C. En la tabla 1.3, se muestra algunos parámetros empleados para la obtención de HAp proveniente de huesos de algunos animales [43].

Tabla 1.3. Parámetros de obtención de HAp a partir de huesos de animales [43]

Mamífero	Pretratamiento (ebullición)	El secado	Velocidad de calentamiento	Temperatura	tiempo de permanencia
Porcino	30 minutos	12 h /80°C	10 °C/min	800°C y 700°C	2 h- 3 h
Avestruz	4 horas	12 h /120°C	5°C/min	650°C y 950°C	6 horas
Bovino	1 hora	3 semanas	10°C/min	750°C	6 horas
Bovino	3 horas	24 h a 100 °C	5°C/min	850°C	2 horas

La fuente natural debe someterse a un pretratamiento que consiste en eliminar de manera manual el contenido orgánico, para luego sumergir la fuente determinado tiempo en alcohol o acetona para eliminar la grasa que no es posible ver a simple vista. La mayor parte de la literatura propone utilizar la calcinación como método de extracción, siendo que cuando son calcinados a temperaturas superiores a 600°C la HAp se puede convertir en  $\beta$ -trifosfato de calcio ( $\beta$ -TCP), es decir, se puede obtener una cerámica monofásica o bifásica [43, 45].

Las cáscaras de huevo y caracoles son fuentes ricas en calcio, además, han mostrado un potencial como biomateriales y precursores de HAp bioactiva. La cáscara de huevo representan aproximadamente el 11% del peso total del huevo, y se compone de ~94% de  $\text{CaCO}_3$ , 1% de  $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$  y un 4% de materia orgánica, a su vez, las conchas de caracol son excelentes fuentes de HAp de alta pureza [45].

### 1.3.2 Fluoruro de polivinilideno (PVDF)

Las señales bioeléctricas se han relacionado con diferentes comportamientos celulares como diferenciación, proliferación, apoptosis, migración, entre otras; así mismo, los estímulos eléctricos también pueden tener efecto en la reparación y regeneración de tejidos como la piel, huesos y nervios [28]. El hueso es un material piezoeléctrico, es decir, su deformación produce bioelectricidad, que a su vez influye en varios procesos bioquímicos del cuerpo humano, incluida la formación de hueso. Por lo anterior, es claro que el efecto piezoeléctrico debe ser un parámetro relevante a tener en cuenta en el desarrollo de biomateriales innovadores, sustitutos del tejido óseo. Un material que presenta un gran potencial para dicha aplicación es el compuesto que combina la HAp con el polímero piezoeléctrico biocompatible, fluoruro de polivinilideno [28].

El PVDF es un polímero semicristalino<sup>2</sup> de la familia de los fluoropolímeros, tiene una estructura polimérica simple con unidad repetitiva  $(\text{C}_2\text{H}_2\text{F}_2)_n$  como se muestra en la figura 1.7a. El PVDF es un polímero piezoeléctrico, hidrofóbico, flexible, con elevada estabilidad térmica, excelente resistencia mecánica y química entre otras propiedades que se relacionan en la tabla 1.4, además de ser biocompatible; es soluble en algunos solventes orgánicos como la N,N-dimetilacetamida (DMAc), dimetilformida (DMF) o Dimetilsulfóxido (DMSO) [28, 46].

El PVDF es adecuado para aplicaciones en la ingeniería de tejidos, ya que cuando se estimula mecánicamente, la superficie genera cargas eléctricas las cuales aumentan la proliferación y diferenciación de osteoblastos y células madre adiposas humanas [47]; se puede presentar en cuatro fases polimórficas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  (figura 1.7b), para aplicaciones biomédicas se ha comprobado

---

<sup>2</sup> Polímero semicristalino: es un polímero que alcanza cierto nivel de organización regular de sus cadenas, obteniendo zonas organizadas denominadas zonas cristalinas. (GUTIERREZ VALENCIA, T. M. (2019). Polímeros: Generalidades y tendencias de investigación en Colombia. UNIVERSIDAD DEL CAUCA.

que la fase  $\beta$  exhibe mejores resultados ya que tiene propiedades piezoeléctricas mejoradas promoviendo una mayor diferenciación osteogénica [48].

Tabla 1.4 Principales propiedades del PVDF [49]

Propiedad	Unidad	Valor
Densidad	$\text{g/cm}^3$	1,78
Punto de fusión	$^{\circ}\text{C}$	160-172
Cristalinidad	%	35-70
Conductividad térmica	$\text{W}/(\text{m}\cdot\text{K})$	0,2
Resistividad volumétrica	$\Omega\cdot\text{m}$	$\geq 10^{14}$
Coefficiente de expansión lineal	$\text{K}^{-1}$	$(120-140)\times 10^{-6}$
Módulo de elasticidad	MPa	1300-2200
Dureza		78

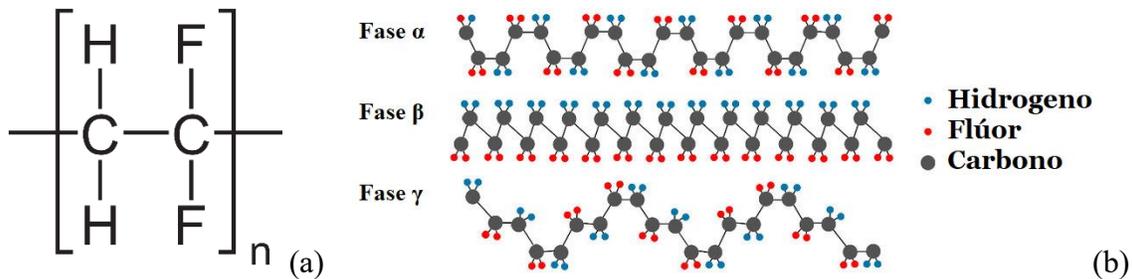


Figura 1.7. Fluoruro de polivinilideno (PVDF), (a) estructura y (b) fases [50].

#### 1.4 Obtención de materiales compuestos basados en HAp/PVDF

Se han obtenido compuestos de polímero/cerámica en polvo, material en bloque y película a partir de procesos mecánicos tales como molienda, compactación y síntesis a bajas temperaturas, spin coating, dip coating, electro hilado, entre otros [28, 48]. La HAp como materia prima obtenida de fuentes naturales puede ser extraída utilizando metodologías comunes, incluidas la calcinación, hidrólisis alcalina, precipitación hidrotermal y combinaciones de estas técnicas [43, 45].

En este trabajo de investigación se obtuvieron compuestos HAp/PVDF en forma de polvo, membrana y pastilla mediante molienda mecánica, slip casting y prensado uniaxial

##### 1.4.1 Molienda mecánica

La molienda mecánica es un proceso mediante el cual se lleva a cabo la fragmentación de la muestra en forma de polvo, que resulta cuando ésta queda atrapada en colisiones entre el medio de molienda (bolas) o entre éste y la pared interior del recipiente donde se encuentra. El proceso de molienda se lleva a cabo hasta que la mezcla alcanza un estado estable, es decir, hasta que la

composición de cada partícula sea la misma que la proporción de los polvos de partida. El polvo molido puede ser consolidado en volumen y tratarse térmicamente para modificar la microestructura de acuerdo con las propiedades deseadas. Durante el proceso de molienda mecánica también pueden ocurrir reacciones químicas, generando productos con naturaleza distinta al material de partida. Cuando esto ocurre, se le denomina “síntesis mecanoquímica” [51].

### **1.4.2 Slip Casting**

El proceso de colado se utiliza para consolidar polvos cerámicos, cementos y metales, permitiendo obtener formas que no se pueden obtener por prensado. El proceso consta de los siguientes pasos: (i) preparar una suspensión con los polvos cerámicos y aglutinantes si los requiere, (ii) la barbotina se mezcla bien y se vierte en un molde y (iii) secar y retirar la pieza seca. Es un método económico y que no requiere herramientas o equipos costosos [52].

### **1.4.3 Prensado uniaxial**

El prensado es la compactación y conformación simultánea de un material en polvo o granular confinado en una matriz rígida o un molde flexible. Las etapas del prensado en seco incluyen (i) el llenado de la matriz, (ii) la compactación y el moldeado, y (iii) la expulsión. Los polvos fluyen libremente y se introducen en la matriz hasta alcanzar el volumen deseado. Los movimientos del pistón y de la matriz suelen coordinarse para inducir el vacío y favorecer la sedimentación del polvo en la cavidad de la matriz. Los polvos sometidos a prensado deben fluir libremente, tener una densidad relativamente alta, estar compuestos por partículas deformables y ser estables en condiciones ambientales. Las piezas prensadas no deben adherirse al pistón y deben ser lo suficientemente resistentes como para soportar la expulsión y la manipulación posterior sin colapsar. Una buena fluidez del polvo, una densidad uniforme del relleno y una velocidad de prensado rápida son esenciales para un proceso reproducible. Las partículas densas, casi esféricas, con superficies lisas y no pegajosas y con un tamaño superior a 20  $\mu\text{m}$  tienen un buen comportamiento. La presencia de más de un 5% de partículas finas con tamaño  $< 20 \mu\text{m}$  puede a veces detener el flujo por completo, ya que las partículas finas pueden entrar en el espacio entre el pistón y la pared de la matriz, lo que aumenta la fricción y reduce el escape de aire. Los problemas de prensado se reducen cuando la densidad aparente de la alimentación en la matriz, denominada

densidad de llenado es alta. En el prensado en seco, la presión producida por los pistones en movimiento compacta el polvo en una pieza cohesiva con una forma y microestructura determinadas. La tasa de densificación es alta al principio, pero luego disminuye rápidamente para presiones superiores a 5-10 MPa. La presión inicial se transmite mediante contacto entre las partículas, cuya deformación se produce por el deslizamiento y posterior reorganización. La deformación de las partículas reduce la porosidad intergranular y aumenta el número y la superficie de los contactos intergranulares. Al examinar el comportamiento pueden identificarse tres etapas de compactación: (i) flujo y reorganización de las partículas, (ii) deformación de las partículas y (iii) densificación [53].

## **1.5 Técnicas de caracterización**

Para elegir el tipo de caracterización de los polvos, las pastillas y las membranas de HAp-PVDF obtenidas en esta investigación, se tuvo en cuenta la necesidad de conocer la estructura y microestructura (grupos funcionales, fases, parámetros de red, volumen de celda), la morfología (tamaño y forma de partícula), la microarquitectura (distribución de la red de poros). A seguir se describen las técnicas de caracterización utilizadas.

### **1.5.1 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).**

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es una técnica analítica instrumental que permite conocer los principales grupos funcionales de la estructura molecular de un compuesto. La región del espectro infrarrojo comprende radiación con números de onda entre 12800 y 10  $\text{cm}^{-1}$  o longitudes de onda de 0.78 a 1000  $\mu\text{m}$ . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de los instrumentos, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones, (i) cercano, (ii) medio y (iii) lejano [54].

El espectro infrarrojo de un compuesto es una representación gráfica de los valores de % de transmitancia (%T) o absorbancia (%A) en función de los valores de longitud de onda ( $\mu\text{m}$ ) o número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ). La absorción de radiación IR por un compuesto a una longitud de onda dada, origina un descenso en el %T o %A, lo que se pone de manifiesto en el espectro en forma de una banda de absorción [54]. En la espectroscopia infrarroja, la radiación IR pasa a través de la muestra, parte de la radiación es absorbida por el material y otra parte es transmitida; el espectro resultante representa la absorción y transmisión molecular. Los enlaces moleculares vibran a varias

frecuencias dependiendo de los elementos y tipos de enlace presentes; para un enlace dado, existen varias frecuencias específicas en los cuales estos pueden vibrar. De acuerdo a la mecánica cuántica, estas frecuencias corresponden al estado base (bajas frecuencias) y a varios estados excitados (altas frecuencias). El aumento en la frecuencia de vibración molecular se debe a la excitación de los enlaces cuando absorben la energía de la radiación emitida. La transición dada entre dos estados de energía (determinados por la longitud de onda) o más exactamente la diferencia de energía entre estos estados (usualmente estado base  $E_0$  y primer estado excitado  $E_i$ ) viene dada por la siguiente expresión [55]:

$$E_i - E_0 = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.1)$$

Donde  $h$  es la constante de Planck,  $c$  es la velocidad de la luz y  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación emitida. La energía correspondiente a las transiciones dadas entre los estados de vibración molecular esta aproximadamente entre 1 a 10 kilocalorías/mol, que corresponde a la región de infrarrojo del espectro electromagnético.

### 1.5.2 Difracción de rayos X

La difracción de rayos X es una técnica analítica no destructiva y de las más importantes en la caracterización de materiales cristalinos [56]. Esta técnica se fundamenta en la ley de Bragg para interferencias constructivas. Bragg desarrolló una explicación sencilla de lo que sucede cuando un haz monocromático de rayos X incide en un cristal; cuando el haz incide con un ángulo  $\theta$  en una estructura ordenada, la ley establece que, para que se presente interferencia constructiva (difracción), es necesario que la diferencia de caminos recorridos sea un múltiplo entero de la longitud de onda del haz incidente, esto es:

$$2d\text{sen}(\theta) = n\lambda \quad (1.2)$$

Donde,  $d$  representa la distancia interplanar,  $n$  el orden de difracción y  $\lambda$  la longitud de onda de la fuente de rayos X. Los sólidos que poseen orden periódico son cristalinos y por tanto dan lugar a patrones de difracción bien definidos. Las distancias entre los diferentes planos que definen la red cristalina determinan el valor del ángulo de Bragg, cuya posición se considera como la “huella de identidad” del sólido ordenado. De este modo los patrones de difracción suministran información inequívoca de la estructura cristalina [57].

### 1.5.3 Análisis Williamson-Hall (W-H)

El ancho del pico de Bragg es una combinación de efectos dependientes tanto del instrumento como de la muestra. Para eliminar el efecto asociado al instrumento se refina el difractograma obtenido con un patrón de calibración del equipo. El ancho de un pico de difracción puede escribirse como [58].

$$\beta_D^2 = |\beta_{medido}^2 - \beta_{instrumental}^2| \quad (1.3)$$

$$D = \frac{k\lambda}{\beta_D \cos \theta} \quad (1.4)$$

Donde,  $\beta_D$  es el ensanchamiento debido a la muestra,  $\beta_{medido}$  el ensanchamiento total medido del difractograma,  $\beta_{instrumental}$  el ensanchamiento debido al instrumento y la ecuación (1.4) es la conocida ecuación de Scherrer. Las imperfecciones cristalinas y la distorsión de la red, induce ensanchamiento de los picos, estos parámetros están relacionados por la expresión  $\varepsilon \approx \frac{\beta_s}{\tan \theta}$ . La ecuación de Scherrer sigue una dependencia  $\frac{1}{\cos \theta}$  pero no con la  $\tan \theta$  como aparece en el método W-H. Esta diferencia radica en que ambas causas microestructurales: tamaño del cristalito y las microdeformaciones, simultáneamente influyen en el ancho del pico de difracción. Para las diferentes posiciones de  $\theta$ , un análisis W-H permite separar las contribuciones del tamaño del cristalito y las microdeformaciones, utilizando las siguientes relaciones:

$$\beta_{hkl} = \beta_s + \beta_D \quad (1.5)$$

$$\beta_{hkl} = \left( \frac{k\lambda}{D \cos \theta} \right) + 4\varepsilon \tan \theta \quad (1.6)$$

$$\beta_{hkl} \cos \theta = \left( \frac{k\lambda}{D} \right) + 4\varepsilon \sin \theta \quad (1.7)$$

Donde  $\lambda$  es la longitud de onda de rayos X,  $k$  es el factor de forma que se toma como 0,9,  $\beta$  es el ancho a la altura media de cada uno de los picos de difracción (FWHM),  $\theta$  el ángulo de Bragg,  $\varepsilon$  la deformación y  $D$  el tamaño del cristalito [59], FWHM fue calculada de los parámetros obtenidos mediante el refinamiento. Una gráfica de  $\beta \cos \theta$  vs.  $4 \sin \theta$  nos proporciona los datos para encontrar  $\varepsilon$  de la pendiente de la recta y  $D$  de su intercepto con el eje vertical.

#### 1.5.4 Microscopia óptica

Los microscopios son instrumentos que nos permite visualizar y estudiar estructuras cuyo tamaño se sitúa por debajo del nivel de resolución del ojo humano, es decir por debajo de las  $250\ \mu\text{m}$ . El microscopio es un arreglo de lentes que permite generar una imagen magnificada del objeto en estudio. Sin lentes, el ojo desnudo puede aumentar la imagen que se genera acercándose al objeto hasta una distancia mínima de aproximadamente  $25\ \text{cm}$ . El modelo más simple de un instrumento de magnificación se conoce como lupa o lente magnificadora, y consiste en una única lente que se coloca frente al objeto. La lente produce un efecto de acercamiento del objeto logrando una imagen virtual de mayor tamaño. La magnificación depende de la distancia focal de la lente y de la distancia de trabajo (en el caso del ojo humano,  $25\ \text{cm}$ ). La capacidad de distinguir más detalles de la muestra en estudio está determinada principalmente por las características del objetivo empleado, el tipo de luz y la técnica usada para generar contraste. Además, los cambios de medio que debe atravesar la luz, inducen una mayor pérdida de luz (información) cuanto mayor es la diferencia en los índices de refracción entre ellos. El aumento observado es el producto de los aumentos originados a través de todos los elementos ópticos del microscopio. El aumento se define como la relación lineal (largo, ancho, profundidad) entre el tamaño de la imagen y del objeto que ésta representa. El uso de objetivos con grandes aumentos está limitado tecnológicamente por la capacidad de compensar los distintos tipos de aberraciones ópticas generadas por las lentes de aumento, pero también por la incapacidad física de enfocar un haz de luz en un volumen menor al indicado por la ley de difracción de Abbe. Por otro lado, el uso de objetivos de mayor aumento, implica una reducción en la cantidad de fotones obtenidos por pixel de la micrografía. Bajo estas condiciones, es esencial recolectar la mayor cantidad de fotones provenientes de la muestra. En este contexto, cobra relevancia el índice de refracción del medio dispersante entre el cubreobjetos y la lente frontal del objetivo. En microscopía óptica, aumentos de  $1.500\times$  están próximos al límite máximo, ya que además de la magnificación, existe la resolución, es decir, la propiedad que permite observar dos puntos adyacentes como unidades distintas. Si bien la magnificación podría incrementarse prácticamente sin límite, la resolución está limitada por las propiedades físicas de la luz. En un microscopio óptico, los límites de resolución se sitúan en aproximadamente  $0,2\ \mu\text{m}$ , lo que significa que dos objetos que se encuentren más próximos que esta distancia no pueden visualizarse como entidades distintas. El poder de resolución está determinado por la longitud de

onda de la luz y una propiedad innata de la lente que se denomina apertura numérica que es la medida de la capacidad de captación de la luz por la lente [60, 61].

### **1.5.5 Microscopía electrónica de Barrido (SEM) con EDS**

La microscopía electrónica de barrido es una técnica no destructiva de análisis que puede suministrar rápidamente información sobre morfología y tamaño, siendo una de las técnicas más versátiles para la observación y análisis de características microestructurales de objetos sólidos. El principio de funcionamiento consiste en utilizar una fuente de electrones de pequeño diámetro para explorar la superficie de la muestra punto a punto, por líneas sucesivas y transmitir la señal del detector perfectamente sincronizado con el haz incidente. Cuando el haz primario incide sobre la muestra, parte de los electrones se difunde y constituye un volumen de interacción cuya forma depende principalmente del voltaje de aceleración y del número atómico de la muestra, en este volumen, los electrones y las ondas electromagnéticas producidas se utilizan para formar imágenes o para realizar análisis físico-químicos.

El microanálisis electrónico consiste en medir los rayos X característicos emitidos desde una región microscópica de la muestra bombardeada por un haz de electrones. Las líneas de rayos X características son específicas del número atómico de la muestra, y su longitud de onda o su energía pueden usarse para identificar el elemento que emite la radiación. Los espectros de rayos X se pueden obtener para todos los elementos de la tabla periódica excepto para el hidrógeno. La técnica de espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) considera el principio de que la energía de un fotón está relacionada con la frecuencia mediante la relación de Planck-Einstein, es decir:

$$E = h\nu \quad (1.8)$$

Donde,  $h$  es la constante de Planck,  $\nu$  la frecuencia y  $E$  la energía del fotón. Fotones con energías correspondientes a todo el espectro de rayos X llegan al detector de rayos X casi simultáneamente, el proceso de medición es rápido, lo que permite analizar las longitudes de onda simultáneamente y determinar el elemento causante de la radiación [62]

### **1.5.6 Análisis termogravimétrico (TGA)**

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica analítica cuantitativa que controla la masa de una muestra a medida que un horno aumenta la temperatura bajo un flujo de gas estable o

cambiante. La primera prueba gravimétrica se realizó en el año 27 a. C., cuando Vitruvio midió el cambio de masa de la piedra caliza al calcinarse y convertirse en cal. Los investigadores aplican esta técnica para deducir conversiones, cinética y mecanismos de cualquier proceso con cambio de masa mediante métodos isotérmicos, no isotérmicos y cuasi isotérmicos. La masa disminuye a medida que la muestra se descompone, los compuestos volátiles se evaporan o el estado de oxidación disminuye, mientras que en entornos reactivos (con O<sub>2</sub>, por ejemplo), la masa de los metales de transición puede aumentar. A menudo, el DSC o el DTA se combinan con el TGA para ayudar a deconvolucionar un gráfico de DSC separando los cambios físicos de los cambios químicos [63].

### **1.5.7 Microdureza**

La microdureza está basada en la relación carga/área, su principal característica radica en que el pequeño tamaño de la herramienta que produce la huella permite la determinación de la dureza en trozos y áreas de material de tamaño microscópico. La microdureza permite la determinación de dureza en áreas de material hasta de tamaños microscópicos, como es el caso de la determinación de dureza en laminillas, recubrimientos, filos de herramientas, superficies endurecidas, etc, es una forma de evaluar el efecto de segregaciones e inclusiones en el comportamiento de los materiales y permite establecer gradientes de endurecimiento, producto de los diferentes procesos y tratamientos que los pueden provocar. Dentro del análisis de microdureza se encuentra el método Vickers que consiste en un penetrador en forma de pirámide regular de cuatro caras y base cuadrada con un ángulo en el vértice de 136°. Se supone que la huella es fiel copia del penetrador, se miden las diagonales de la huella y se calcula la microdureza Vickers de la siguiente manera:

$$H_V = \frac{1,8544P}{d^2} \quad (1)$$

Donde, P es la carga aplicada en Newtons, d es la diagonal media en mm y H<sub>v</sub> la microdureza Vickers dada en N/mm<sup>2</sup> [64].

### **1.5.8 Microtomografía computarizada de rayos X-MicroCT**

La microtomografía computarizada es una técnica de imagen en 3D que utiliza rayos X para ver el interior de un objeto, corte a corte. Esta técnica es similar a la tomografía computarizada hospitalaria, pero a pequeña escala y con una resolución mucho mayor. Se pueden analizar

muestras con tamaños tan pequeños como 100 nanómetros y objetos de hasta 200 milímetros de diámetro.

Los rayos X se generan en una fuente y se transmiten a través de la muestra, el detector los registra como una imagen de proyección 2D. A continuación, la muestra se gira una fracción de grado y se toma otra imagen. Este paso se repite durante un giro de 180 grados (o a veces de 360 grados, según el tipo de muestra). Esta serie de cortes transversales 2D, posteriormente se procesan para construir un modelo 3D e incluso pueden imprimirse como objetos físicos 3D para su análisis. Se puede ver el interior del objeto y revelar sus características internas, proporcionando información volumétrica sobre la microestructura, de forma no destructiva.

La microtomografía computarizada proporciona información tridimensional de alta resolución que no puede obtenerse con ninguna otra tecnología no destructiva. Puede utilizarse para estudiar la estructura interior de muestras tanto materiales como biológicas sin necesidad de cortarlas, preservando las muestras o especímenes para futuros estudios. Los modelos digitales tridimensionales creados a partir de cortes virtuales de micro-CT permiten a los científicos medir cualquier parámetro para compararlo y estudiar su evolución.

Estas características únicas de la exploración por micro-CT permiten observar la morfología de una muestra y estudiar características como: porosidad, estructura/grosor óseo, fracción de volumen, análisis de defectos, densidad, tamaño de partículas, huecos, orientación de fibras, etc. Los investigadores utilizan la micro-CT para estudiar huesos, dientes, tejidos/órganos, materiales compuestos, dispositivos médicos, baterías, etc. [65]

# Capítulo II

## Metodología



En este capítulo, se describirá el proceso experimental seguido para alcanzar los objetivos de la investigación propuesta. La extracción de la HAp de huesos mamíferos se realizó mediante calcinación y la obtención de compuestos HAp/PVDF por Molienda mecánica, slip casting y prensado uniaxial. Los métodos fueron seleccionados de acuerdo con la disposición de equipos y a la revisión de la literatura descritos en el capítulo 1. Finalmente, las muestras obtenidas se caracterizaron mediante TGA, FTIR-ATR, SEM, DRX, y Micro-CT.

Fue utilizado el método de calcinación para la obtención de HAp. Con la HAp como materia prima, se obtuvo un material compuesto HAp/PVDF a partir de tres métodos (molienda mecánica, slip casting y prensado uniaxial), así:

- ✓ Por el método calcinación fueron obtenidos polvos cerámicos de HAp a partir de dos fuentes naturales: (i) HAp de hueso bovino (HAp-B) y (HAp-P) de hueso porcino. Posteriormente, por molienda mecánica se obtuvo HAp híbrida (HAp-h) a partir de HAp-B/HAp-P en las siguientes proporciones 20/80, 40/60, 50/50, 60/40, 80/20.
- ✓ Por el método slip casting fueron obtenidas membranas del material compuesto HAp/PVDF en las siguientes proporciones 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70.
- ✓ Por el método prensado uniaxial fueron obtenidas pastillas del material compuesto HAp/PVDF en las siguientes proporciones 5/95, 15/85, 30/70.

A continuación, se detalla el proceso seguido para cada una de las muestras.

## **2.1 Método de calcinación para obtención de HAp**

Fueron utilizados huesos de ganado bovino (fémur) y huesos de ganado porcino (espinazo) obtenidos directamente del comercio local cárnico de Popayán. En el proceso de obtención de HAp se siguieron seis etapas: (i) los huesos con residuo orgánico fueron llevados a ebullición en agua durante 1h, al cabo de la cual se retiró manualmente todo el contenido orgánico hasta obtener solamente el hueso (figura 2.1a); (ii) los huesos bovinos fueron sumergidos en acetona (ACS pureza  $\geq 99.5\%$ ) y los huesos porcinos en alcohol industrial (Quimpo, 96%) durante 72h (figura 2.1b); (iii) Ambas muestras fueron sometidas a un proceso de secado en una estufa a 50°C durante 24 h; (iv) A seguir, los huesos fueron fracturados para disminuir su tamaño, utilizando una prensa

de banco manual; los huesos fueron forrados con papel toalla para evitar contaminar con partículas liberadas por la prensa durante el proceso de fractura. La fractura se realizó hasta obtener el menor tamaño posible, como se muestra en la figura (2.1c); en la siguiente etapa, (v) el hueso fracturado fue calcinación a  $600^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$  durante 4h en una mufla; el enfriamiento se hizo libremente hasta alcanzar la temperatura ambiente (figura 2.1d); finalmente, la etapa (vi) consistió en macerar el hueso calcinado en un mortero de ágata (figura 2.1e) hasta obtener un polvo grisáceo, que se sometió a tratamiento térmico a  $650^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$  durante 4h en una mufla, obteniéndose un polvo fino de color blanco (figura 2.1f).

Para comparar los polvos obtenidos con el mineral natural, se obtuvo HAp de huesos humanos (HAp-H) mediante el proceso descrito anteriormente. Los huesos fueron facilitados por la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca.

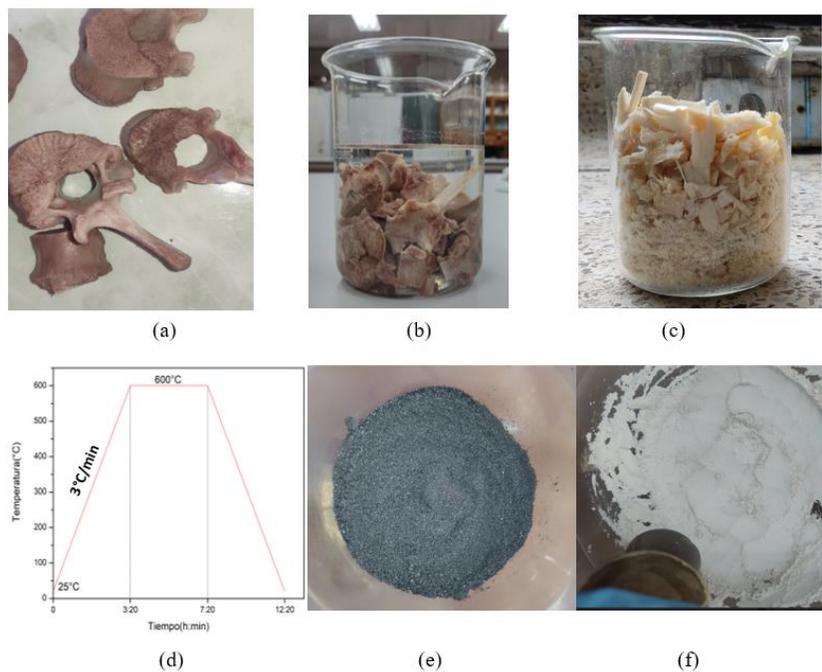


Figura 2.1 Etapas del proceso de obtención de HAp a partir de huesos mamíferos. (a) materia prima, (b) eliminación de grasas mediante acetona o alcohol, (c) fractura del hueso, (d) rampa de temperatura (e) primera calcinación y disminución de tamaño (f) maceración del tercer tratamiento térmico.

## 2.2 Obtención de HAp híbrida por molienda mecánica.

La HAp híbrida (HAp-h) fue obtenida mezclando polvos cerámicos de HAp-B y HAp-P, con diferentes concentraciones. Se escogieron las concentraciones 20/80, 40/60, 50/50, 60/40 y 80/20 de HAp-B/HAp-P. El proceso de obtención constó de 4 etapas: (i) Se calcularon los valores para obtener 4g de HAp-h y se pesaron en una balanza (Ohaus AR2140) (figura 2.2a); se depositaron en un recipiente de plástico y se adicionó etanol (Merk 1.00983.2500) (figura 2.2b); (ii) Para el proceso de molienda se utilizó una relación 3:1 (bolas: polvo de HAp), se sellaron los recipientes y fueron colocados en un molino de bolas (U.S Stoneware OH 44413) (figura 2.2c) a una velocidad de 60 rpm durante 24h. En el paso (iii) las muestras fueron trasvasadas a beakers y llevadas al horno durante 24h a 40°C para eliminar el alcohol (figura 2.2d). La última etapa (iv) consiste en obtener HAp-h por maceración de los polvos en un mortero de ágata por 15min hasta obtener un polvo fino (figura 2.2e). Se siguió el mismo proceso para las diferentes concentraciones.

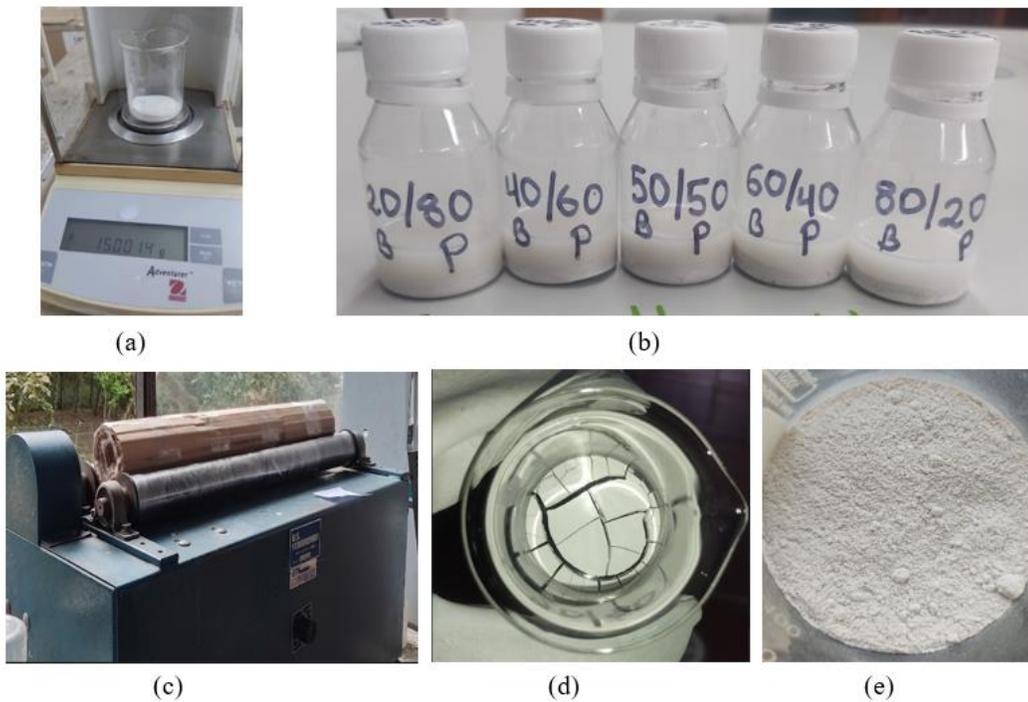


Figura 2.2. Proceso de obtención de HAp-h: (a) pesaje cantidades de muestra, (b) preparación de polvos en alcohol y bolas cerámicas, (d) molienda, (d) secado, (e) maceración de polvo.

### 2.3 Obtención de polvos del compuesto HAp/PVDF por molienda mecánica

Se obtuvieron compuestos de HAp-B/PVDF, HAp-P/PVDF y HAp-h/PVDF en las concentraciones que se muestran en las tablas 2.1 y 2.2, respectivamente. La obtención de los compuestos HAp/PVDF sigue los mismos pasos descritos en el ítem 2.2.

Tabla 2.1. Cálculos estequiométricos para 3g del compuesto HAp/PVDF.

HAp/PVDF	HAp(g)	PVDF(g)	Compuesto(g)
5/95	0,15	2,85	3
10/90	0,30	2,70	3
15/85	0,45	2,55	3
20/80	0,60	2,40	3
25/75	0,75	2,25	3
30/70	0,90	2,10	3

Tabla 2.2. Compuestos HAp-h/PVDF para la obtención de 3g.

Muestra	%HAp-h/PVDF	HApB/HApP	HAp-h(g)	PVDF(g)
1	30/70	20/80	0,9	2,1
2		50/50	0,9	2,1
3		80/20	0,9	2,1

### 2.4 Fabricación de membranas HAp/PVDF

Se fabricaron membranas por el método de slip casting de HAp-B/PVDF, HAp-P/PVDF y HAp-h/PVDF en 3 etapas: (i) se preparó una solución al 8% peso/volumen de PVDF disuelto en DMSO (Fisher Chemical D128-1) en un beaker y se dejó en agitación en una plancha durante 7h a temperatura ambiente (figura 2.3a), (ii) se adicionó la HAp; la mezcla se llevó a ultrasonido por 30 min a 30°C (figura 2.3b) para evitar la formación de aglomerados; posteriormente la mezcla se sometió a agitación a temperatura ambiente hasta que se obtuvo una solución viscosa (aproximadamente 2h); (iii) Se depositó en moldes (figura 2.3c) y se dejó reposar a temperatura ambiente por 8h. Como paso final, se sometió a tratamiento térmico a 80°C por 10 h (figura 2.3d).

Los pasos anteriores se realizaron para la fabricación de membranas en las siguientes concentraciones:

- ✓ Membranas de HAp-B/PVDF y HAp-P/PVDF en concentraciones de 5/95, 15/85, 25/75 y 30/70.
- ✓ Membranas de HAp-h/PVDF en las concentraciones mostradas en la tabla 2.2

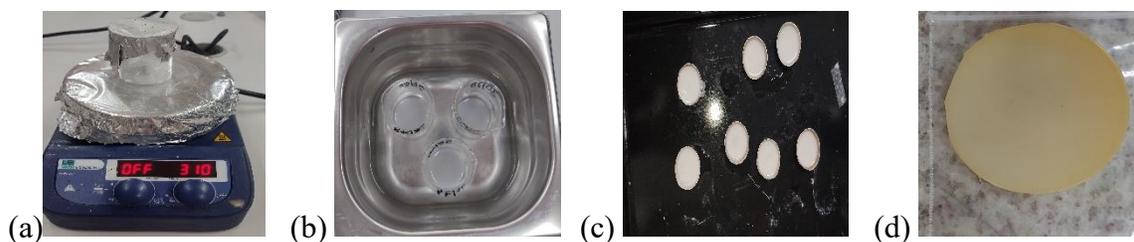


Figura 2.3. Membranas de HAp/PVDF. (a) agitación, (b)dispersión HAp, (c) fundición y (d) membranas.

## 2.5 Fabricación de pastillas HAp/PVDF por prensado uniaxial

Se obtuvieron pastillas a partir de los compuestos obtenidos en el numeral 2.3, se utilizaron las concentraciones 5/95, 15/85 y 30/70 de HAp-B/PVDF y HAp-P/PVDF. En un troquel fue depositada una pequeña cantidad del material en polvo, luego fue prensado a 1000 psi durante 2min utilizando una prensa universal (Carver) (figura 2.4a), en la figura 2.4b se muestra las pastillas obtenidas, posteriormente, las pastillas fueron tratadas en una estufa (Haceb) a 170°C por una hora (figura 2.4c).



Figura 2.4. obtención de pastillas HAp/PVDF. (a) troquel y prensa, (b) pastilla en verde y (c) pastilla con tratamiento a 170°C

## 2.6 Caracterización de las muestras

A continuación, se describen las diferentes técnicas y parámetros utilizados para caracterizar los polvos cerámicos de HAp, HAp/PVDF, membranas y pastillas del material compuesto HAp/PVDF.

### **2.6.1 Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)**

Los polvos cerámicos obtenidos fueron caracterizados mediante FTIR-ATR, utilizando el espectrofotómetro Thermo Scientific Nicolet iS50 del Laboratorio de Materiales Cerámicos y Nanoestructurados- LMCNano de la Universidad de Brasilia. Para el análisis solo fue necesario depositar una mínima cantidad de la muestra en polvo sobre el platillo y prensada con el eje del equipo. Se realizó el análisis con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  y 32 scans.

### **2.6.2 Difracción de rayos X (DRX)**

Las fases presentes en el material fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X utilizando el difractómetro Shimadzu XRD-6000 del Laboratorio de Caracterización Termomecánica y Microestructural de Materiales Inteligentes- LabMatl de la Universidad de Brasilia, para el análisis se utilizó radiación  $K_{\alpha}$  del Cu ( $\lambda=1,5405980\text{ \AA}$ ), voltaje de 40 kV y 30 mA de corriente. Para la identificación de fases se midieron e interpretaron patrones obtenidos con paso  $2\theta = 0.02^{\circ}$ , intervalo angular  $15^{\circ} < 2\theta < 65^{\circ}$  a una velocidad de  $1^{\circ}/\text{min}$  y tiempo por paso de 1.20 s. Se utilizó el programa X'pert HighScore plus 3.0.0 para la identificación de las fases cristalinas. Finalmente, los parámetros de la celda se obtuvieron realizando refinamiento Rietveld mediante el programa GSAS utilizando la carta cristalográfica 9011093 de Crystallography Open Database.

### **2.6.3 Microscopía óptica**

La fractura de las pastillas fue analizada mediante microscopía óptica, se utilizó el microscopio óptico de alta resolución Nikon, modelo Eclipse 80i de la unidad de microscopía de la Universidad del Cauca.

### **2.6.4 Microscopía electrónica de barrido con EDS**

La morfología de las muestras en forma de polvo y membrana fueron caracterizadas mediante microscopía electrónica de barrido con EDS, se utilizó el microscopio electrónico de barrido de emisión de campo JSM-7100F del laboratorio de microscopía electrónica de barrido y laser con focal de la Universidad de Brasilia. Para las microscopías se utilizó un voltaje de 15 kV y para el análisis EDS 20 kV con una corriente de 1 nA. Las muestras fueron recubiertas por una película de carbono a través de Sputtering, con un metalizador Quorum Technologies (modelo Q150T)

durante 3 min, el proceso se repitió dos veces para mejorar la conductividad eléctrica en la superficie.

Las pastillas fueron caracterizadas utilizando el microscopio JEOL JSM-6490LV de la unidad de microscopia de la Universidad del Cauca. Las muestras fueron recubiertas con carbono con un tiempo de exposición de 10 minutos y para el análisis se utilizó un voltaje de aceleración de 20kV.

### **2.6.5 Análisis termogravimétrico**

Los cambios de masa y transiciones de fase del hueso bovino fueron caracterizados por TGA, se utilizó un analizador termogravimétrico con calorimetría exploratoria diferencial TGA/DSC 3+ Metter Toledo del Laboratorio de Materiales Cerámicos y Nanoestructurados-LMCNano de la Universidad de Brasilia. La muestra fue analizada en una atmosfera de argón sintético con una velocidad de 10°C/min y un rango de temperatura de 25-800°C.

### **2.6.6 Microtomografía de rayos X-MicroCT**

La porosidad y microestructura de los compuestos en forma de pastilla fue caracterizados por MicroCT, se utilizó el microtomógrafo computarizado TermoFisher HeliScan Mark I del Laboratorio de Materiales Cerámicos y Nanoestructurados- LMCNano de la Universidad de Brasilia (figura 2.5). Las pastillas fueron colocadas sobre el portamuestra y analizadas con un tiempo de exposición de 0,25 s, una trayectoria de doble hélice, 1800 proyecciones por revolución, y una fuente de 80 kV y 80 mA; la reconstrucción del sólido fue realizada y analizada mediante el software Avizo 3D.

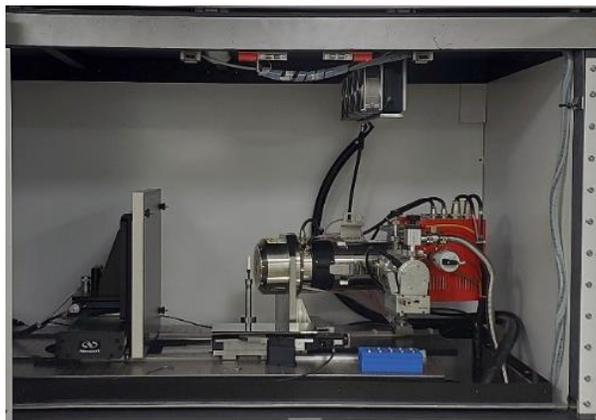


Figura 2.5. Microtomografo computarizado de rayos X del Laboratorio LMCNano-Universidad de Brasilia



# **Capítulo III**

## **Análisis y resultados**



En este capítulo, se presentan los resultados de la caracterización realizada a las muestras en polvo de HAp obtenidas a partir de hueso bovino, porcino e híbrido, al PVDF y al material compuesto HAp/PVDF tanto en polvo como en forma de membrana y como material en bloque. Para identificar las principales características de los sistemas mencionados, se presentan los resultados obtenidos mediante análisis térmico, espectroscopia infrarroja (FTIR), difracción de rayos X (DRX), microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido (SEM) con EDS, microdureza y microtomografía computarizada de rayos X (Micro-CT), técnicas utilizadas para determinar el comportamiento térmico, los grupos funcionales, estructura cristalina, morfología, tamaño de partícula, dureza, porosidad y estructura de poros de las muestras obtenidas.

### 3.1 Caracterización de la fuente natural de HAp

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para las muestras identificadas como HAp-B, HAp-P y también de la HAp-H (HAp humana), que será utilizada como patrón de referencia.

#### 3.1.1 Análisis térmico

En la figura 3.1 se presenta el análisis térmico realizado al hueso bovino.

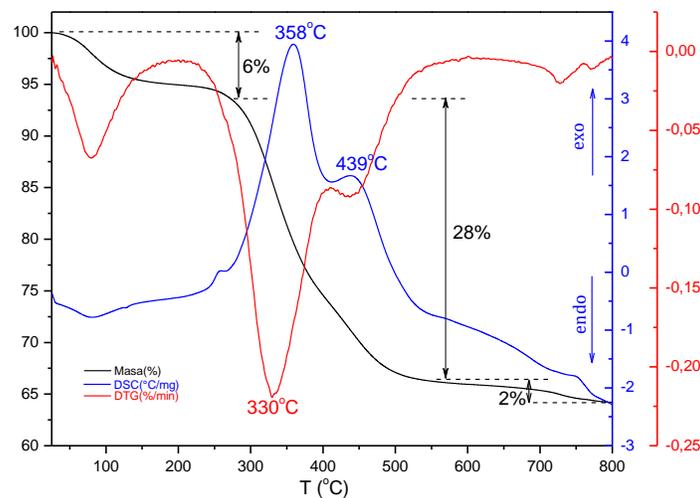


Figura 3.1 Análisis térmico de hueso (a) bovino y (b) porcino.

De acuerdo con el análisis termogravimétrico (curva negra), se observa un cambio de 6% en masa desde temperatura ambiente hasta  $\sim 270^{\circ}\text{C}$ , debido a pérdida de agua y a la descomposición de parte de la materia orgánica, así mismo, el termograma DSC (curva azul) muestra un pico pequeño

alrededor de  $\sim 80^{\circ}\text{C}$  que puede estar asociado con la pérdida de agua tanto superficial como estructural [66]. A continuación, se observa una pérdida de 28% entre  $\sim 270^{\circ}\text{C}$  y  $\sim 550^{\circ}\text{C}$  que corresponde a la descomposición del resto de materia orgánica, el hidróxido de calcio y de carbonatos, coincidiendo con un pico considerable en la curva del análisis DTG (curva roja) a  $\sim 330^{\circ}\text{C}$  y con pico del análisis DSC (curva azul), exotérmico, a  $358^{\circ}\text{C}$  asociado con los procesos de degradación y combustión del colágeno contenido en el hueso [66]. El colágeno es responsable de la estructura del hueso, ya que sobre él se depositan los cristales de HAp para formar la matriz ósea; su descomposición se da entre  $250$  y  $550^{\circ}\text{C}$  quedando sólo polvo de HAp y carbono [67], este proceso exotérmico se da a una temperatura de  $\sim 439^{\circ}\text{C}$  como se observa en la curva DSC [68]. Finalmente, se da una disminución de 2% entre  $550^{\circ}\text{C}$  y  $800^{\circ}\text{C}$ , debida a la descomposición del carbonato de la matriz orgánica y procesos de pirolisis, acompañada de la transformación fisicoquímica de la bio HAp, estos dos últimos porcentajes de pérdidas, al tratarse de la descarboxilación de la muestra, dan paso a la liberación de  $\text{CO}_2$  [67, 69].

### **3.1.2 Espectroscopia infrarroja de la HAp obtenida a partir de hueso bovino y porcino**

En la figura 3.2 se observan los espectros correspondientes al hueso porcino (3.2a) y bovino (3.2c) tratados a  $150^{\circ}\text{C}$ ; en ellos se observan intensas bandas que corresponden a agua molecular, iones carbonato y grupos fosfato. La banda a  $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$  corresponde a una vibración de estiramiento de la molécula de agua; las bandas que aparecen alrededor de  $\sim 1530$ ,  $\sim 1453$ ,  $\sim 870$  y  $\sim 560\text{ cm}^{-1}$  están asociadas con grupos carbonato; la banda ubicada en  $\sim 1012\text{ cm}^{-1}$  está asociada con el grupo fosfato; las bandas ubicadas a  $\sim 1411$  y  $\sim 600\text{ cm}^{-1}$  se pueden asociar con grupos amida y carbono de a las proteínas presentes en el hueso, principalmente colágeno [70, 71]. En las figuras 3.2b y 3.2d se puede observar el cambio experimentado por el hueso bovino y porcino al ser tratado térmicamente; las bandas asociadas a la molécula de agua y a los grupos amida observadas en los espectros de la figura 3.2a-c, desaparecen después del tratamiento a  $650^{\circ}\text{C}$  por lo que se puede inferir que el carbono y los grupos amida de las proteínas presentes en los huesos son eliminados a esa temperatura y transformados en dióxido de carbono en presencia del oxígeno del aire. Por otra parte, las bandas asociadas al grupo carbonato se mantienen a  $650^{\circ}\text{C}$  y la presencia de dos bandas en  $\sim 1530$  y  $\sim 1453\text{ cm}^{-1}$  en lugar de una única banda puede ser atribuido a una pérdida en la simetría en el ion carbonato; ya que las bandas observadas en el hueso a  $150^{\circ}\text{C}$  continúan

apareciendo aproximadamente en las mismas longitudes de onda en el espectro correspondiente al hueso tratado a 650°C de lo que se deduce que las bandas correspondientes a los espectros de HAp-B y HAp-P están relacionadas con los componentes inorgánicos del hueso [70, 71].

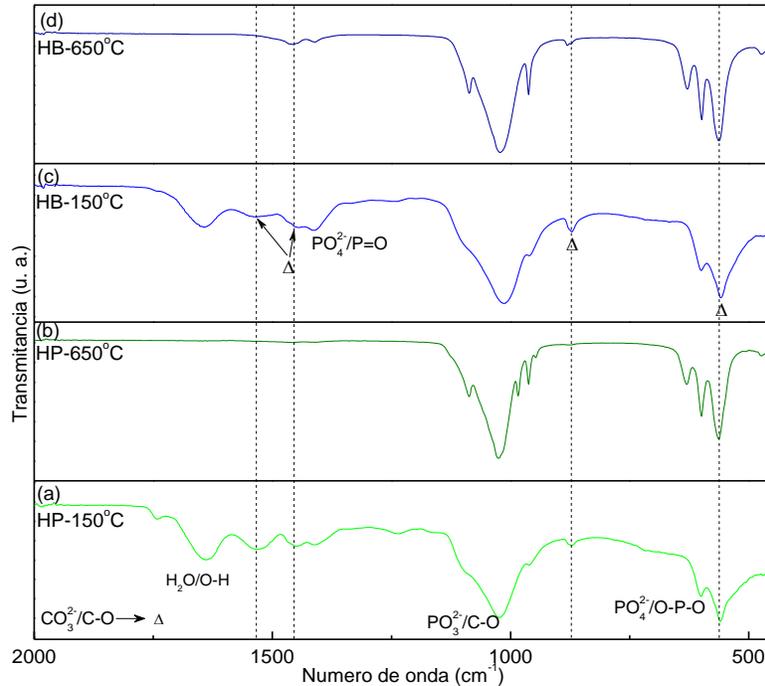


Figura 3.2 Espectro IR de polvos de hueso: (a) porcino-150°C, (b) porcino-650°C, (c) bovino-150°C y (d) bovino-650°C.

En la figura 3.3, se presenta el espectro FT-IR de la HAp obtenida de hueso bovino, porcino y humano; se identificaron bandas correspondientes a las vibraciones principales de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{OH}^-$  propios de la HAp, también están presentes bandas asociadas a grupos carbonatados o enlaces C-O. Las bandas ubicadas a  $\sim 1454$ ,  $\sim 1408 \text{ cm}^{-1}$  corresponden a modos vibracionales asimétricos tipo tensión del grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ , mientras que la banda ubicada a  $\sim 880 \text{ cm}^{-1}$  corresponde a un modo vibracional simétrico tipo flexión del mismo grupo; el grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  presenta tres modos vibracionales diferentes, alrededor de  $\sim 1088$  y  $\sim 1017 \text{ cm}^{-1}$  se encuentra la señal más intensa que corresponde a la vibración antisimétrica tipo tensión ( $\nu_3$ ), el modo vibracional simétrico tipo tensión ( $\nu_1$ ) está ubicado a  $\sim 960 \text{ cm}^{-1}$ , a  $\sim 600$  y  $\sim 560 \text{ cm}^{-1}$  el grupo fosfato presenta un modo vibracional asimétrico tipo flexión ( $\nu_4$ ) [72]. El grupo hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) característico de la hidroxiapatita presenta un modo vibracional tipo flexión alrededor de  $\sim 630 \text{ cm}^{-1}$ .

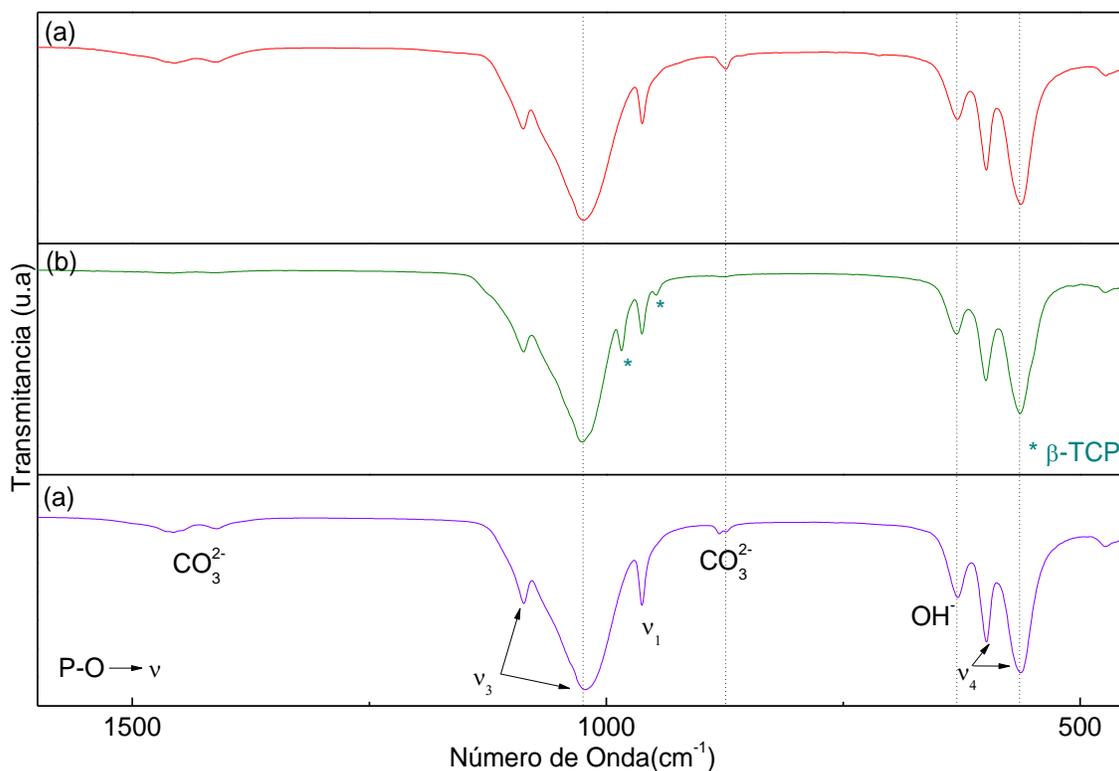


Figura 3.3 Espectro IR de polvos de HAp obtenidos de hueso: (a) bovino, (b) porcino y (c) humano.

La figura 3.3b correspondiente a la HAp obtenida de hueso porcino muestra dos bandas adicionales ubicadas a  $\sim 983$  y  $\sim 947\text{cm}^{-1}$ , estas bandas están asociadas a la presencia de la fase secundaria  $\beta$ -TCP en la HAp-P [5]. La presencia del grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  en los espectros de la figura 3.3, indica que a  $650^\circ\text{C}$  se obtiene HAp carbonatada, estos modos vibracionales son evidencia de que el  $\text{CO}_3^{2-}$  sustituye al  $\text{PO}_4^{3-}$  en la estructura de la HAp, por lo tanto, la biocerámica es una apatita carbonatada tipo B, además, la presencia de iones como el  $\text{CO}_3^{2-}$  representa una ventaja para aumentar las tasas de bioactividad y conferir propiedades biomiméticas al biomaterial [73]. La presencia de fosfato tricálcico está relacionada con la desviación en la razón estequiométrica Ca/P, aunque esta desviación en la estequiometría puede estar relacionada también con sustituciones iónicas como el  $\text{HPO}_4^{3-}$  o el  $\text{CO}_3^{2-}$  que pueden ocupar el sitio del  $\text{PO}_4^{3-}$  o del  $\text{OH}^-$  [74]. De la figura se aprecia la similitud de los espectros de las tres fuentes naturales, lo que permite concluir que los grupos funcionales de la HAp bovina y porcina son similares al mineral natural del hueso humano (HAp-H).

Se sabe que el contenido de carbonato en el hueso varía entre el 2% y el 10% en peso, dependiendo de la fuente, especie y edad del espécimen [75]. Por lo anterior, es de interés calcular la cantidad de carbonato presente en las muestras obtenidas, lo que se hace usando la ecuación propuesta por Murugan y colaboradores quienes comparan la transmitancia de una banda de carbonato localizada en  $\sim 1450 \text{ cm}^{-1}$  con una banda de fosfato localizada en  $\sim 569 \text{ cm}^{-1}$ , según la ecuación [76]:

$$\%CO_3^{2-} = 13,5 \cdot \log\left(\frac{T_2}{T_1}\right) - 0,2 \quad (3.1)$$

Donde

$CO_3^{2-}$  representa la cantidad de carbonato

$T_2$  representa el valor de la transmitancia de la banda localizada a  $1450 \text{ cm}^{-1}$

$T_1$  representa el valor de la transmitancia de la banda localizada a  $569 \text{ cm}^{-1}$

Con los datos tomados de los espectros de la figura 3.3, fue obtenida la figura 3.4 donde se representa la cantidad de carbonato contenida en cada una de las muestras de HAp.

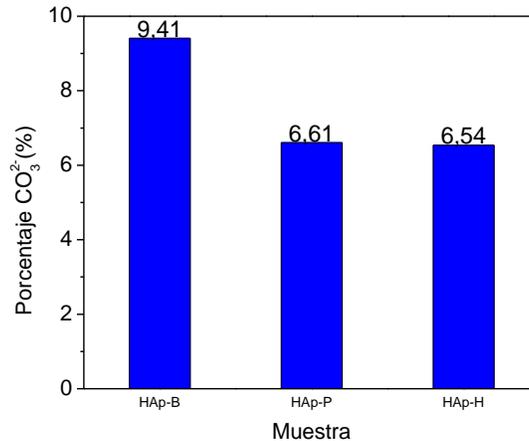


Figura 3.4 Cantidad de carbonato contenida en las muestras de HAp, calculada a partir de la ecuación (3.1)

De acuerdo con los resultados mostrados en la figura 3.4, las muestras obtenidas contienen porcentajes menores a 10% de  $CO_3^{2-}$ , pero la HAp-P presenta mayor similitud con la muestra de referencia (HAp-H). por lo anterior, las muestras HAp-B y HAp-P obtenidas en esta investigación presentan contenidos de carbonato que las hacen buenas candidatas como biomaterial para regeneración ósea.

### 3.1.3 Difracción de rayos X

En la figura 3.5 se observan los espectros de difracción de rayos X del hueso bovino y porcino con tratamiento térmico a 150°C y a 650°C. En las figuras 3.5a y 3.5c se observan los patrones de difracción de hueso natural (bovino y porcino) a 150°C que muestran claramente su baja cristalinidad, a esta temperatura este material está compuesto básicamente de una matriz orgánica de colágeno de tipo I que contiene proteoglicanos de bajo peso molecular y proteínas no colágenas, correspondientes al 25% del peso del hueso; una parte mineral correspondiente al 65% y agua, correspondiente al 10% [70].

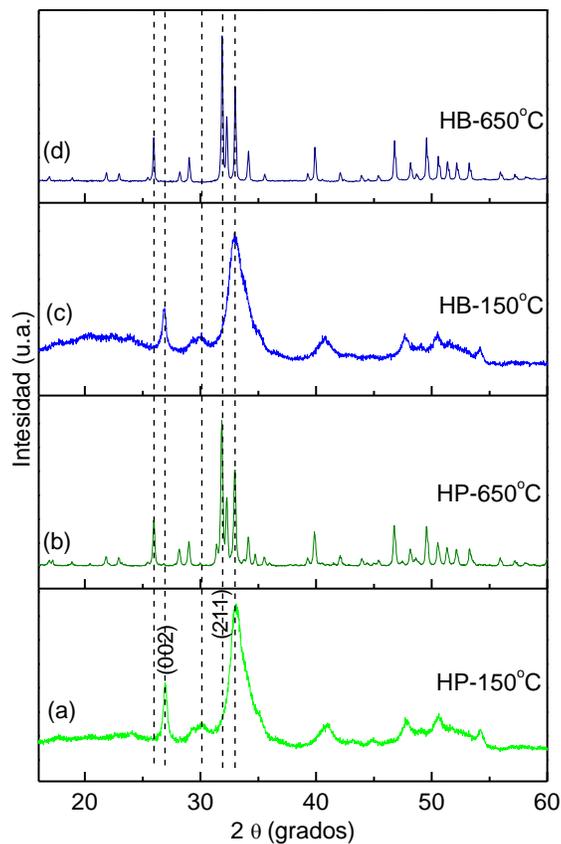


Figura 3.5 Espectros DRX correspondientes a huesos: (a) HP-porcino tratado a 150°C, (b) HP-porcino tratado a 650°C, (c) HB-bovino tratado 150°C, (d) HB-bovino a 650°C

De acuerdo con reportes anteriores, los espectros de las figuras 3.5a y 3.5c presentan picos principales relacionados con la hidroxiapatita [34, 73]. El primero está situado en torno a  $\sim 26^\circ$  y el segundo a  $\sim 32^\circ$ , denotando así que el material de partida corresponde a la fase mineral característica del tejido óseo que no son sometidos a tratamiento térmico de desmineralización

[70]. El pico en torno a  $\sim 32^\circ$  corresponde al plano (211) de la estructura cristalina de HAp. Cuando el hueso se trata a  $650^\circ\text{C}$  se elimina la parte orgánica y se observa el aumento de la cristalinidad del material asociada con la formación de HAp (figuras 3.5b y 3.5d). En la figura 3.6 se observan los patrones de difracción de rayos X correspondientes a muestras de tejido óseo bovino, porcino y humano, tratadas térmicamente a  $650^\circ\text{C}$ . De la figura puede observarse la mayoría de los picos corresponden a la fase cristalina de la hidroxiapatita; sin embargo, aparecen algunos picos en la HAp-H que no parecen en la HAp-B y HAp-P los cuales pueden estar asociados con elementos traza que el hueso contiene. La muestra correspondiente al hueso porcino cristaliza un pequeño porcentaje de una segunda fase que corresponde al fosfato tricálcico beta ( $\beta$ -TCP), que también ha sido reportada en estudios anteriores [5,77]. La presencia de la fase  $\beta$ -TCP confirma los resultados obtenidos mediante FTIR.

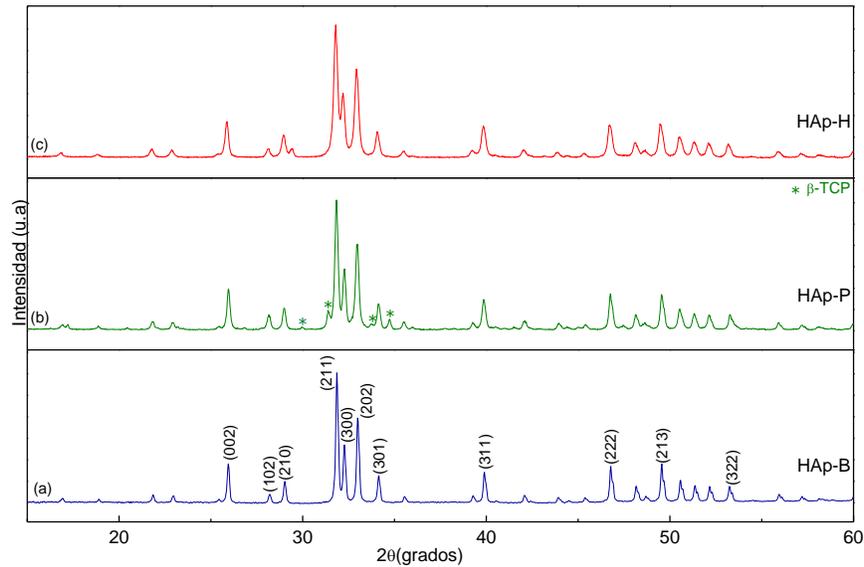


Figura 3.6. Espectro DRX de (a) HAp-B, (b) HAp-P y (c) HAp-H tratados térmicamente a  $650^\circ\text{C}/2\text{h}$

Los patrones de difracción de la figura 3.6 fueron refinados mediante el programa GSAS, en la figura 3.7 se puede observar el patrón de difracción del hueso bovino. Los datos obtenidos del refinamiento realizado a las tres muestras se presentan en la tabla 3.1. La estructura cristalina de todas las muestras se ajusta con el grupo espacial  $P6_3m$  del sistema hexagonal, los parámetros de red difieren ligeramente al igual que la densidad.

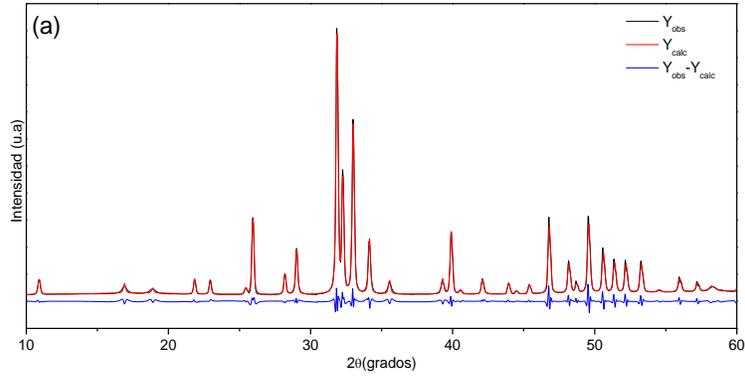


Figura 3.7 Refinamiento Rietveld del patrón de difracción presentado en la figura 3.6a (HAp-B)

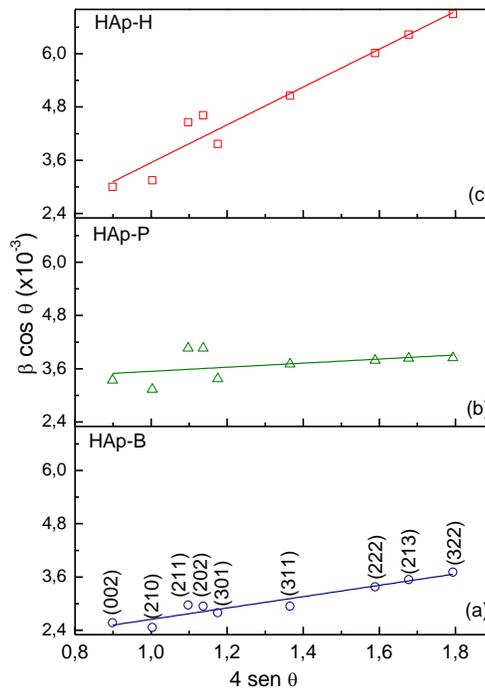


Figura 3.8 Gráficas de Williamson-Hall para las muestras de HAp.

Tabla 3.1. Datos correspondientes al refinamiento Rietveld de los patrones de difracción de las muestras de HAp.

El tamaño de cristalito se calculó utilizando el método de Williamson-Hall, cuyas curvas son presentadas en la figura 3.8, y fueron obtenidas calculando el ancho a la altura media de nueve picos de los espectros presentados en la figura 3.6. Las diferencias en el tamaño de cristalito son

considerables, el menor tamaño lo presenta la muestra HAp-P, pudiendo deberse a la presencia de fosfato tricálcico beta.

Parámetro refinado	HAp-H	HAp-B	HAp-P
$a$ (Å)	9.407	9.431	9.416
$c$ (Å)	6.880	6.893	6.873
Volumen $P6_3/m$ (Å <sup>3</sup> )	527.173	530.914	527.651
$\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	2.892	3.001	2.606
Tamaño cristalito (W-H) (nm)	194	102	45
$\chi^2$	1,22	1,38	1,58

### 3.1.4 Microscopía electrónica con EDS

En la figura 3.9 se presentan las micrografías de las muestras de HAp-B y HAp-P, donde se observan, en los dos casos, partículas con alto grado de aglomeración lo que impide apreciar su morfología y tamaño; aunque se puede ver la diferencia de tamaño de partícula entre las muestras, siendo que la HAp-P es la que posee un menor tamaño de partícula.

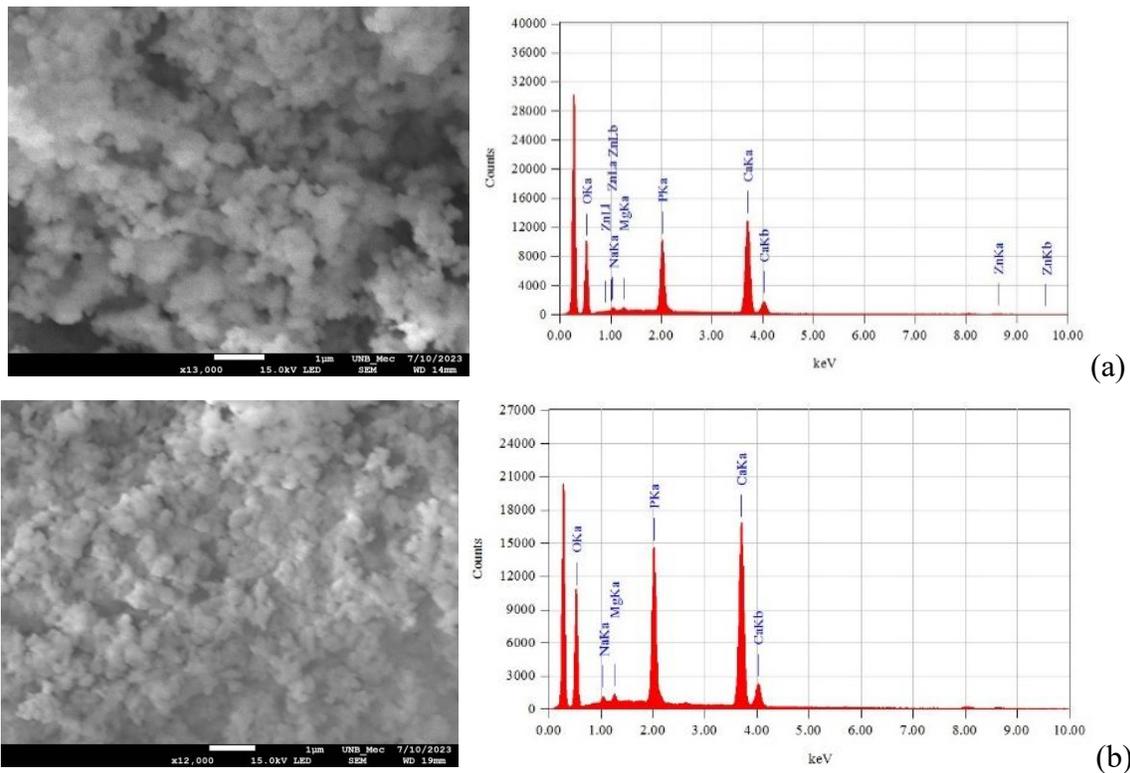


Figura 3.9 Microscopía electrónica con EDS correspondiente a las muestras de: (a) HAp-B y (b) HAp-P

Del análisis con EDS puede observarse que las dos muestras contienen pequeños porcentajes de iones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , y la muestra de HAp-B contiene además iones de  $\text{Zn}^{2+}$ ; estos iones están presentes en la HAp obtenida de fuente natural y son considerados benéficos para aplicación de la HAp como biomaterial, ya que estos iones son micronutrientes vitales para actividades metabólicas relacionadas con la regeneración del tejido óseo. Varias investigaciones han reportado que el uso de la HAp obtenida de hueso animal es más activa biológicamente que la HAp sintética [25,34,38]. Esta ventaja está relacionada con las propiedades inherentes de la materia prima, como son la baja cristalinidad, composición química incluyendo la presencia de iones como los observados en las muestras analizadas [78]. En la tabla 3.2 puede observarse los porcentajes atómicos de los elementos presentes en las muestras observadas en las micrografías de las figuras 3.8.

Tabla 3.2 Resultado del análisis de EDS de la HAp-B y la HAp-P

Sistema \ %	Ca	P	Ca/P	Na	Mg	Zn
Hueso Bovino – 650°C	8.83	6.04	1.46	0.62	0.39	0.26
Hueso Porcino – 650°C	9.66	7.22	1.34	0.60	0.57	---

### 3.1.5 Sistemas formados por HAp-B y HAp-P

Teniendo en cuenta que no hay reportes en la literatura sobre la obtención de un material formado por HAp-B y HAp-P, y con el fin de evaluar el comportamiento que este pueda presentar fue obtenido el compuesto al cual llamaremos HAp híbrida (HAp-h). Se mezclaron polvos de HAp-B y HAp-P en diferentes porcentajes. La figura 3.10 presenta el espectro FTIR de las composiciones obtenidas.

En la figura 3.10 se observan los espectros de todas las composiciones obtenidas que corresponden al espectro característico de la HAp, con la presencia de los grupos hidroxilo, fosfato y carbonato. También se observan pequeñas bandas asociadas al  $\beta$ -TCP ubicada a  $\sim 983\text{cm}^{-1}$ , cuando se tienen los mayores porcentajes de HAp-P. Las bandas no presentan corrimientos de longitudes de onda, además, se observa como al aumentar el porcentaje de HAp-P aumenta la intensidad de la banda asociada al fosfato tricálcico, por lo que el híbrido se convierte en una cerámica bifásica de HAp +  $\beta$ -TCP la cual puede potenciar su actividad biológica como biomaterial [48]. A su vez, la intensidad de las bandas asociadas al grupo carbonato disminuye a medida que se adiciona HAp-P. En la figura 3.11 se observan los espectros de difracción de rayos-X de la HAp híbrida para tres

composiciones, en todos los espectros la fase mayoritaria es la HAP cristalina con un pequeño porcentaje de  $\beta$ -TCP.

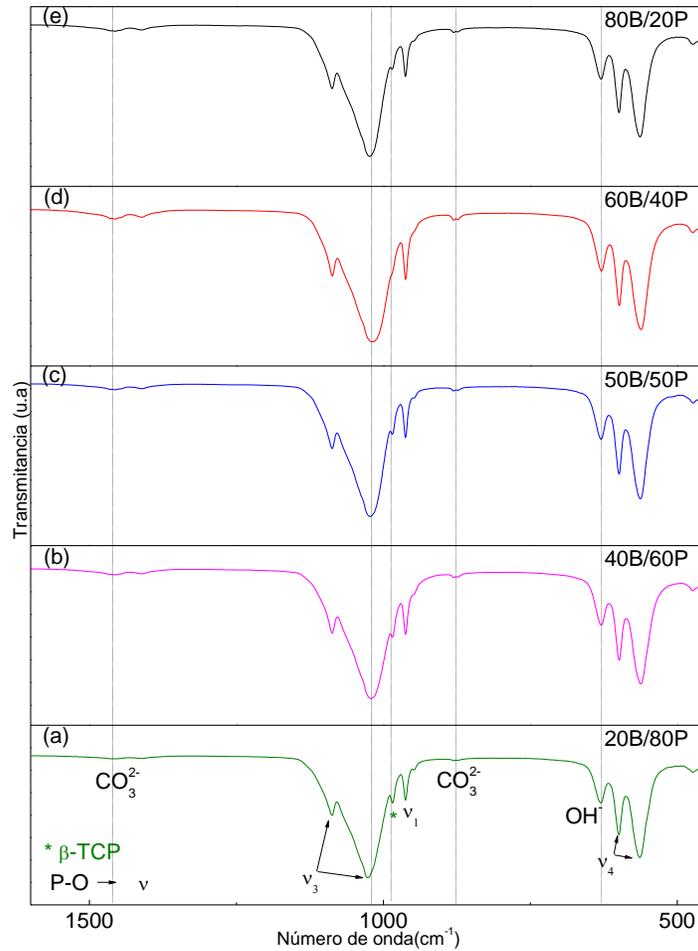


Figura 3.10 Espectro FTIR de la HAp híbrida

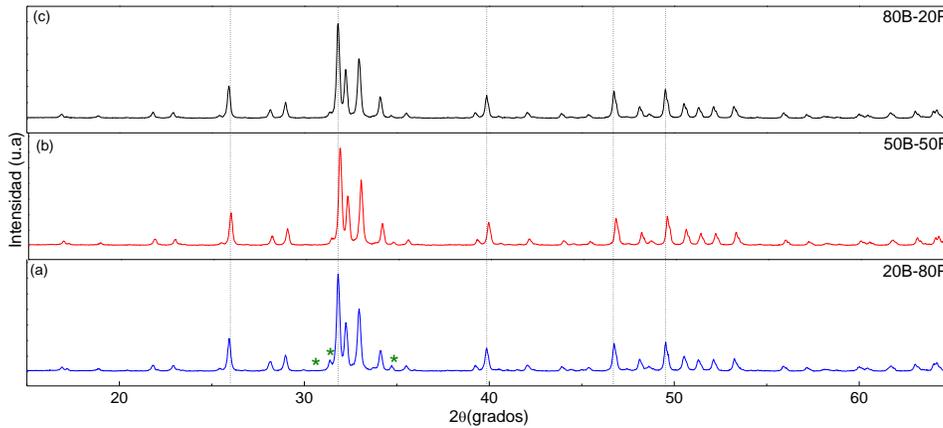


Figura 3.11 Espectros de difracción de rayos X obtenidos para tres composiciones de HAp híbrida.

### 3.2 Caracterización de los polvos de PVDF

Ya que el objetivo del trabajo es la obtención de un material compuesto por HAp/PVDF, se debe caracterizar el polímero (PVDF), para analizar posteriormente el comportamiento y espectros del material compuesto HAp/PVDF. La unidad monomérica del PVDF es  $\text{CH}_2\text{-CF}_2$  y es de naturaleza semicristalina<sup>3</sup>. La región cristalina consta de al menos cuatro polimorfos cristalinos denominados  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ . Entre los cuatro polimorfos, la fase  $\alpha$  (figura 3.12a) es la fase no polar más estable, con una estructura de conformación TGTG, Trans-Gauche-Trans-Gauche, -trans (estirada) y Gauche (encogida). La fase  $\beta$  del polímero del PVDF tiene una conformación plana toda trans (TTTT) (Fig. 3.12b). En la fase  $\beta$  (figura 3.12b), los átomos H y F están unidos en la cadena de tal manera que los momentos dipolares asociados con los dos enlaces C-H y los dos enlaces C-F se suman y se alinean en la dirección perpendicular a la columna vertebral del carbono para dar un momento dipolar mayor por celda unitaria.

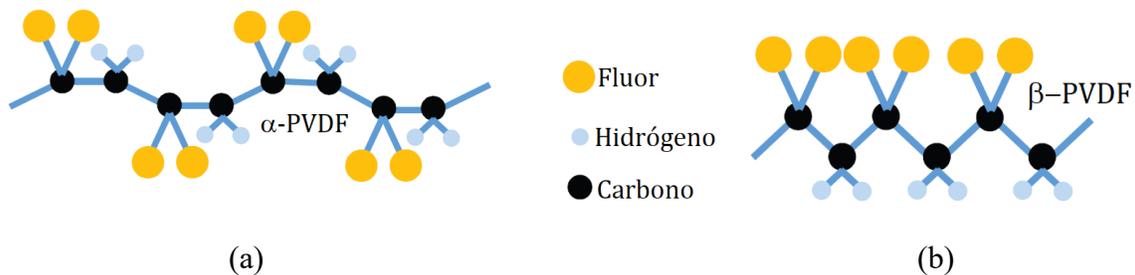


Figura 3.12 Estructura molecular de las fases  $\alpha$  y  $\beta$  del PVDF

La presencia de las diferentes fases depende de los parámetros de procesado, el tipo de disolvente, la temperatura de evaporación del disolvente, la carga en la matriz del polímero, la carga de estiramiento, el calentamiento y el recocido, entre otras [79]. El interés científico se ha centrado en la fase  $\beta$  debido a sus propiedades piezoeléctricas y ferroeléctricas; además, estudios recientes consideran que compuestos eléctricamente activos, y principalmente aquellos que muestran respuesta piezoeléctrica, como la fase polar  $\beta$  pueden conducir a acelerar los procesos implicados en la regeneración ósea [5].

---

<sup>3</sup>Polímero semicristalino: es un polímero que alcanza cierto nivel de organización regular de sus cadenas, obteniendo zonas organizadas denominadas zonas cristalinas. GUTIERREZ VALENCIA, T. M. (2019). Polímeros: Generalidades y tendencias de investigación en Colombia. UNIVERSIDAD DEL CAUCA.

### 3.2.1 Espectroscopía infrarroja

En la figura 3.13 se presenta el espectro FTIR del PVDF del que se pueden identificar sus fases cristalinas características. Las bandas de absorción para los tres principales polimorfos  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  del PVDF pueden clasificarse en tres categorías principales: (i) las bandas comunes que aparecen en las tres fases; (ii) bandas exclusivas que sólo aparecen en una de las tres fases; y (iii) bandas duales que pueden proceder de dos fases diferentes. Las bandas en el rango de  $876\text{-}885\text{ cm}^{-1}$ ,  $1067\text{-}1075\text{ cm}^{-1}$ ,  $1171\text{-}1182\text{ cm}^{-1}$  y  $1398\text{-}1404\text{ cm}^{-1}$  aparecen en las tres fases. Las bandas exclusivas de la fase  $\alpha$  se sitúan en torno a  $486, 530, 613, 762, 796, 853, 975, 1150, 1207, 1384$  y  $1424\text{ cm}^{-1}$ ; las exclusivas de la fase  $\beta$  se sitúan en torno a  $473$  y  $1277\text{ cm}^{-1}$ ; y las exclusivas de la fase  $\gamma$  se sitúan en torno a  $486, 811$  y  $1234\text{ cm}^{-1}$  [80].

En la figura 3.13 se presenta el espectro FTIR del PVDF del que se pueden identificar sus fases cristalinas características. Las bandas de absorción para los tres principales polimorfos  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  del PVDF pueden clasificarse en tres categorías principales: (i) las bandas comunes que aparecen en las tres fases; (ii) bandas exclusivas que sólo aparecen en una de las tres fases; y (iii) bandas duales que pueden proceder de dos fases diferentes. Las bandas en el rango de  $876\text{-}885\text{ cm}^{-1}$ ,  $1067\text{-}1075\text{ cm}^{-1}$ ,  $1171\text{-}1182\text{ cm}^{-1}$  y  $1398\text{-}1404\text{ cm}^{-1}$  aparecen en las tres fases. Las bandas exclusivas de la fase  $\alpha$  se sitúan en torno a  $486, 530, 613, 762, 796, 853, 975, 1150, 1207, 1384$  y  $1424\text{ cm}^{-1}$ ; las exclusivas de la fase  $\beta$  se sitúan en torno a  $473$  y  $1277\text{ cm}^{-1}$ ; y las exclusivas de la fase  $\gamma$  se sitúan en torno a  $486, 811$  y  $1234\text{ cm}^{-1}$  [81].

La fase  $\alpha$ -PVDF se identifica con la presencia de las siguientes bandas: la ubicada a  $\sim 1182\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la deformación axial asimétrica del  $\text{CF}_2$ ; los modos de vibración ubicados a  $\sim 975$  y  $\sim 796\text{ cm}^{-1}$  corresponden a la deformación angular en el plano del  $\text{CH}_2$ ; las bandas a  $\sim 762$  y  $\sim 613\text{ cm}^{-1}$  están asociadas con una deformación angular del  $\text{CH}_2$  y  $\text{CF}_2$  respectivamente; la banda ubicada a  $\sim 486\text{ cm}^{-1}$  es la banda representativa de la fase  $\alpha$  y representa vibraciones de flexión y balanceo del grupo  $\text{CF}_2$  [80].

La fase  $\beta$  se identifica por la presencia de las siguientes bandas: la ubicada a  $\sim 1401\text{ cm}^{-1}$  se asocia a la deformación axial del grupo  $\text{CH}_2$ ; las ubicadas a  $\sim 1067$  y  $\sim 873\text{ cm}^{-1}$  corresponden a los modos de vibración de deformación angular en el plano y fuera del plano respectivamente, del grupo  $\text{CF}_2$ ;

por último, la banda representativa de la fase  $\beta$  está ubicada a  $\sim 841 \text{ cm}^{-1}$  y se asigna a un modo mixto de vibraciones de estiramiento de los grupos  $\text{CH}_2/\text{CF}_2$  [82, 83].

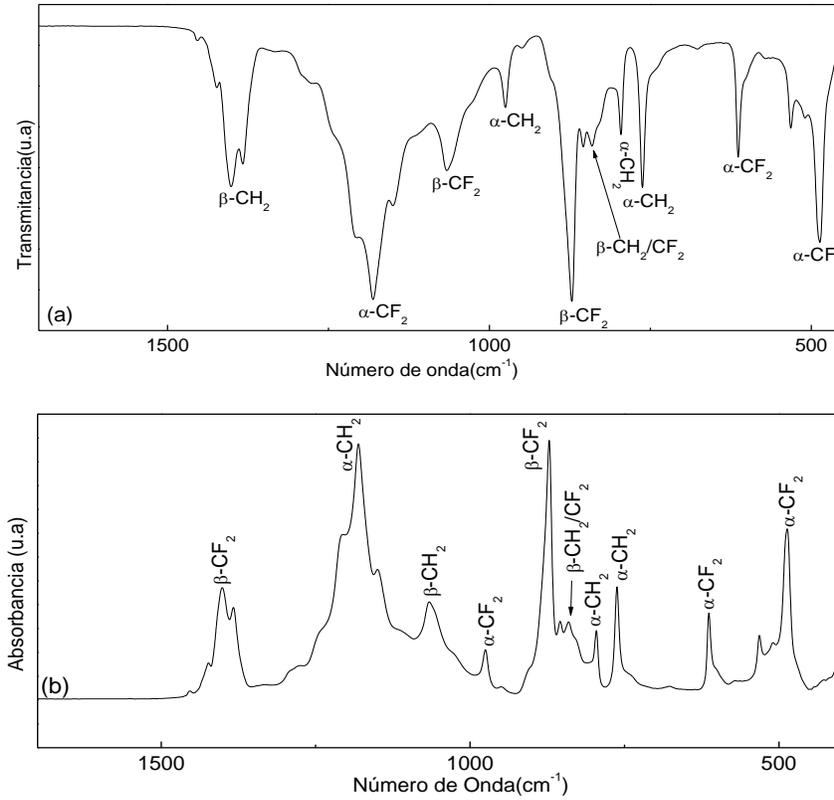


Figura 3.13 Espectro IR de polvos de PVDF en (a) transmitancia y (b) absorbancia

Debido a que la banda de  $841 \text{ cm}^{-1}$  puede asignarse a las fases  $\beta$ ,  $\gamma$  o a ambas y basándose en otra información sobre las bandas, se puede cuantificar la fracción relativa de fases  $\alpha$  y  $\beta$  en términos de las medidas del espectro de absorbancia a partir de las siguientes relaciones [80]:

$$F(\alpha) = \frac{A_{762}}{\left(\frac{K_{762}}{K_{841}}\right)A_{841} + A_{762}} \quad (3.2a)$$

$$F(\beta) = \frac{A_{841}}{\left(\frac{K_{841}}{K_{762}}\right)A_{762} + A_{841}} \quad (3.2b)$$

Donde  $A_{762}$  y  $A_{841}$  corresponden a las absorbancias en  $762$  y  $841 \text{ cm}^{-1}$  características de las fases  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente (figura 3.13b). Los valores de  $K_{762}$  y  $K_{841}$  corresponden a los coeficientes de absorción asociados a los números de onda característicos de las fases  $\alpha$  y  $\beta$ , obtenidos a partir

de muestras puras para estas fases y toman los valores de  $6,1 \times 10^4$  y  $7,7 \times 10^4$   $\text{cm}^2/\text{mol}$  respectivamente [80]. A partir de la ecuación 3.2a y 3.2b y de la gráfica 3.13b, fueron calculadas las fracciones de las fases  $\alpha$  (0,622) y  $\beta$  (0,378), finalmente, se obtuvo que la fase predominante en el polvo de PVDF corresponde un 62,2% para la fase  $\alpha$ , mientras que la fase  $\beta$  representa un 37,8%.

### 3.2.2 Difracción de Rayos X

La figura 3.14 presenta el difractograma de polvos de PVDF. Los picos más intensos asociados al PVDF son  $18,8^\circ$ ,  $19,3^\circ$ ,  $27,5^\circ$ ,  $36,7^\circ$  asociados con los planos (020), (110), (021) y (200) respectivamente, característicos de la fase  $\alpha$  correspondiente a una estructura monoclinica no polar con grupo espacial P21/c. El pico ubicado a  $20,9^\circ$  está asociado a la difracción del plano (110) de una celda ortorrómbica con grupo espacial Cm2m, correspondiente a la fase  $\beta$ , polar y piezoeléctricamente activa. Otros picos de menor intensidad asociados a la fase  $\beta$  están ubicados a  $36,7^\circ$  y  $56,9^\circ$ ; el pico ubicado a  $39,6^\circ$  está asociado a la fase  $\alpha$  [5, 49, 84].

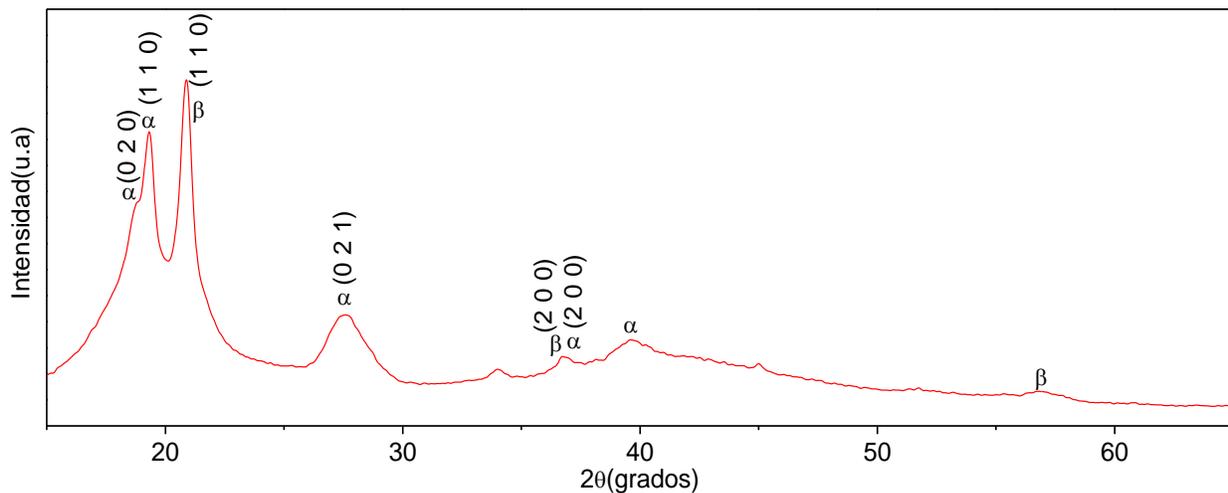


Figura 3.14 Espectro DRX del PVDF

### 3.2.3 Microscopía electrónica de barrido

En la figura 3.15 se presenta la microscopía electrónica de barrido de los polvos de PDVF, puede observarse que el sistema está formado por esferas homogéneas de tamaño micrométrico con un tamaño medio de  $0,3\mu\text{m}$ ; el análisis por EDS muestra que las microesferas están compuestas por carbono y flúor, elementos presentes en el PVDF.

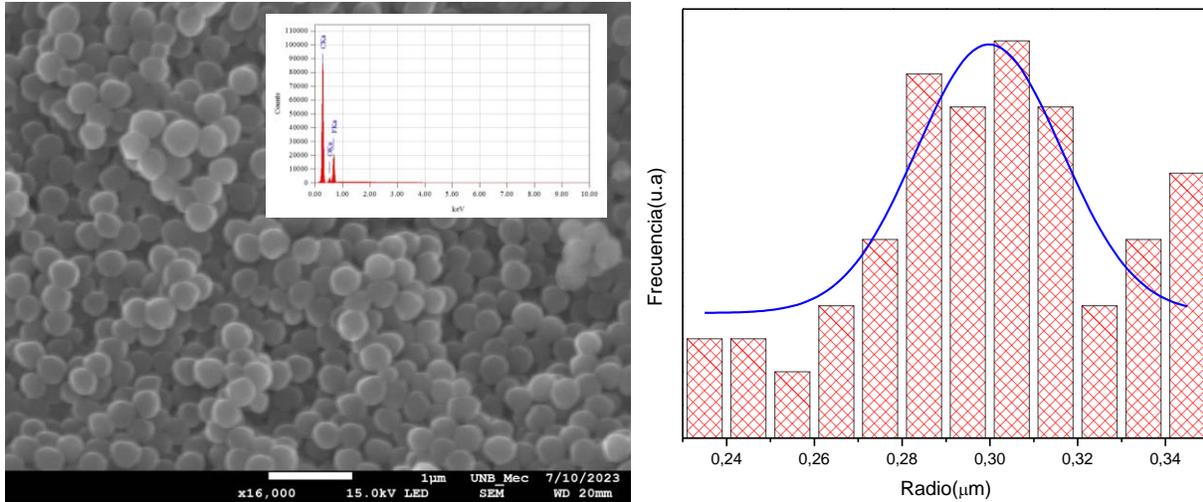


Figura 3.15. Microscopia electrónica con EDS correspondiente de polvos de PVDF y distribución de radio de partícula.

### 3.3 Compuestos HAp/PVDF

#### 3.3.1 Caracterización del polvo de HAp/PVDF

En la figura 3.16, se observan los espectros infrarrojos en absorbancia del polvo obtenido de la combinación por molienda mecánica de polvos de HAp-B/PVDF (3.16a) y HAp-P/PVDF (3.16b), en distintos porcentajes. En todos los espectros se identifican las bandas asociadas a la HAp y al PVDF; sin embargo, los modos de vibración del PVDF enmascaran las bandas asociadas a la HAp tanto bovina como porcina. A medida que el porcentaje de polvo de HAp aumenta, las bandas relacionadas a sus modos de vibración comienzan a predominar. La presencia de las bandas asociadas a los dos sistemas indica la obtención de un nuevo sistema compuesto por HAp/PVDF. Se observa que la banda ubicada a  $\sim 1017\text{ cm}^{-1}$  característica de la HAp y asignada al modo  $\nu_3$  del ion  $\text{PO}_4^{3-}$  experimenta un leve corrimiento a número de onda mayor; para bajas concentraciones esta banda se enmascara considerablemente surgiendo con una forma alterada, en forma y ubicación; algunos investigadores asignan esta banda (atribuida al modo  $\nu_3$  del ion  $\text{PO}_4^{3-}$ ) a una nueva banda, otros argumentan que las diferentes condiciones de síntesis pueden alterar la posición en la que se produce la vibración de la banda de la HAp [48, 85]. El desplazamiento en la frecuencia de las bandas puede correlacionarse directamente con el nivel de interacciones moleculares, como el enlace de hidrógeno y las interacciones dipolo-dipolo; estas se pueden generar entre los átomos de H con el F y el O, de las dos especies que se mezclan por un tiempo prolongado, pudiendo

generar interacciones de van der Waals. Las interacciones dipolo dipolo también podrían presentarse entre los grupos moleculares asociados a los dos sistemas que forman el material compuesto [86].

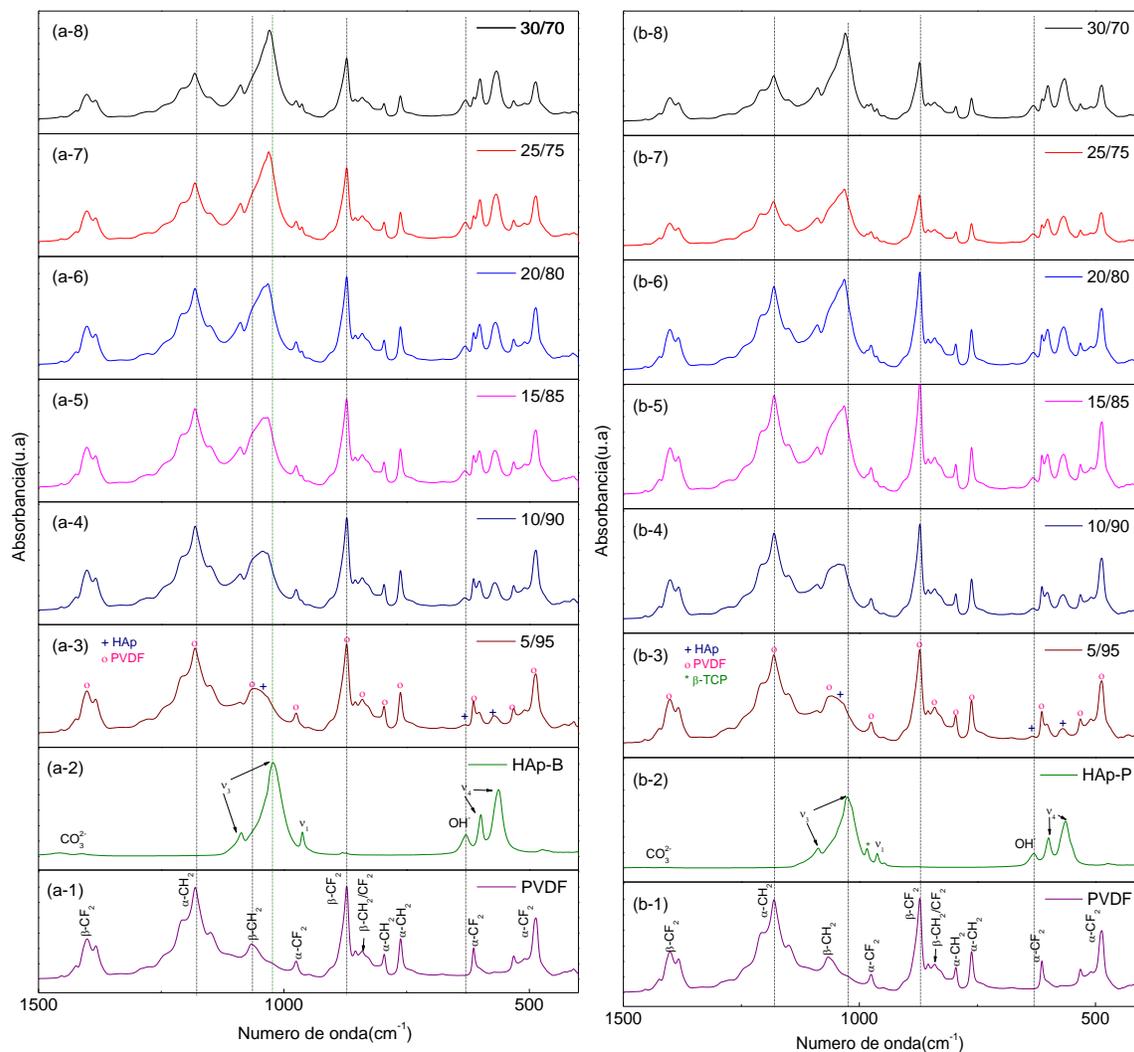


Figura 3.16. Espectros FTIR de compuestos en polvo de: (a) HAp-B/PVDF y (b) HAp-P/PVDF

En el rango entre los números de onda  $835\text{ cm}^{-1}$  y  $634\text{ cm}^{-1}$ , se puede observar que solo hay bandas asociadas al PVDF y estas experimentan una modificación considerable que prevalece para todas las composiciones analizadas, lo que puede favorecer la formación de la fase electroactiva  $\beta$ . A medida que se modifican los porcentajes de los sistemas que forman el material compuesto, también se observan variaciones en la intensidad de las bandas, lo que puede estar relacionado con la cantidad de enlaces que comparten los mismos números de onda y la posible interacción entre

estos, ya que la intensidad de una banda de absorción puede depender de: (i) la polaridad del enlace, ya que un enlace con mayor polaridad muestra una banda de absorción más intensa, o de (ii) el número de enlaces responsables de la absorción, ya que una banda de absorción con más enlaces implicados tiene mayor intensidad [87].

Las fases  $\alpha$  y  $\beta$  del compuesto fueron calculadas a partir de la ecuación 3.2 y los resultados se muestran en la figura 3.17. La adición de HAp-B y HAp-P en las diferentes concentraciones obtenidas incrementa levemente la fase electroactiva  $\beta$  en comparación al PVDF puro, aunque, se observa que la adición de HAp-B favorece la formación de la fase electroactiva  $\beta$ -PVDF, en comparación con la HAp-P. Lo anterior se evidencia con un leve aumento en la intensidad de la banda ubicada a  $841\text{ cm}^{-1}$  característica de la fase electroactiva  $\beta$  y la disminución de la banda ubicada a  $762\text{ cm}^{-1}$  característica de la fase  $\alpha$ .

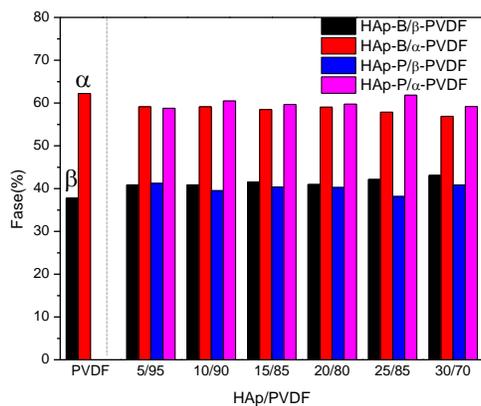


Figura 3.17. Cuantificación de las fases  $\alpha$  y  $\beta$  del material compuesto HAp/PVDF en polvo.

La figura 3.18 muestra los espectros de difracción de los polvos correspondientes a los compuestos HAp-B/PVDF en seis concentraciones diferentes, se identificaron los picos característicos de los sistemas HAp y PVDF, lo que indica que no se formaron nuevas fases cristalinas; a medida que aumenta el porcentaje de HAp los picos del PVDF disminuyen, y los de la HAp aumentan, como es de esperarse [28, 48,85]. También, se observa un corrimiento uniforme a la izquierda de los picos característicos del PVDF, lo que indica un aumento de  $0.2297\text{ \AA}$  en el espaciamiento de los planos en el PVDF, lo que fue calculado con el software X'pert [88]. Este corrimiento está asociado al aumento en los parámetros de red, lo que puede estar relacionado a que el PVDF es un polímero semicristalino y puede experimentar tensiones en su estructura que generen modificación en los parámetros de red durante la molienda. Por su parte, los picos de la HAp-B en el compuesto no

presentan modificaciones respecto a la posición, pero si a la intensidad, este comportamiento este asociado al porcentaje de HAp en el compuesto, ya que al aumentar la cantidad los picos se intensifican.

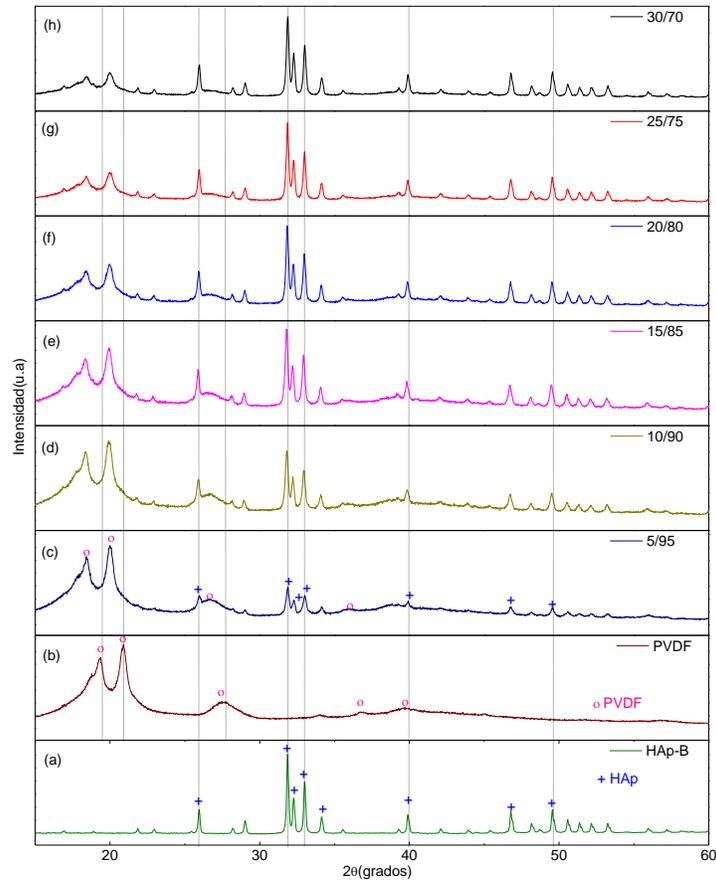


Figura 3.18. Patrón de Difracción DRX compuestos HAp-B/PVDF en polvo.

La figura 3.19 muestra los espectros de difracción de los compuestos basados en HAp-P/PVDF en los cuales es posible identificar que no se formaron nuevas fases ya que se encuentran los picos característicos de los precursores del material compuesto; los picos característicos del PVDF no presentaron modificaciones en su posición como ocurrió con los compuestos utilizando como precursor HAp-B.

Los picos de la HAp-P presentaron un corrimiento uniforme a la derecha indicando una disminución de  $0.0775\text{\AA}$  en el espaciamiento interplanar. La modificación de los parámetros de red de la HAp-P, puede deberse a que las tensiones generadas en el proceso de molienda fueron más efectivas en esta HAp-P ya que tiene un tamaño de cristalito pequeño, casi la mitad de la que

posee la HAp-B (como puede observarse en la tabla 3.1). Los picos correspondientes al  $\beta$ -TCP son enmascarados por el PVDF ya que a medida que aumenta la concentración de la HAp-P pueden ser identificados.

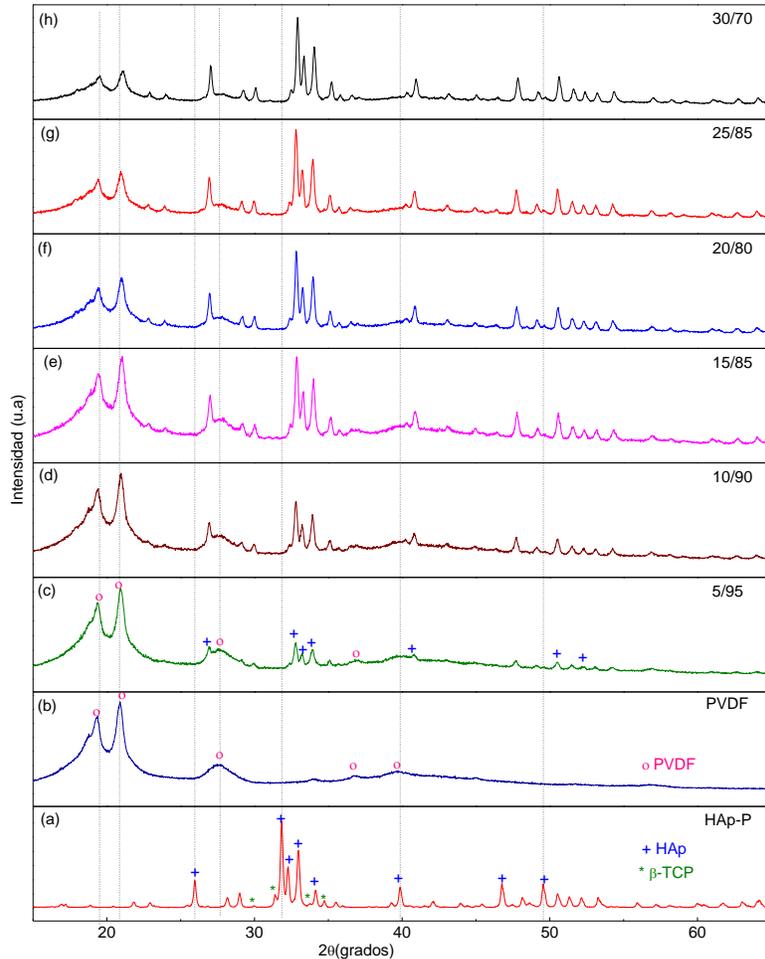


Figura 3.19. Patrón de Difracción DRX compuestos HAp-P/PVDF en polvo.

La figura 3.20 muestra las micrografías para algunos compuestos basados en HAp/PVDF (HAp-B y HAp-P), en diferentes concentraciones. En todas las micrografías se puede observar que la morfología característica de cada fase se conserva. Las partículas esféricas corresponden al PVDF y las partículas aglomeradas que no tienen una forma definida corresponde a la HAp. El PVDF en el material compuesto tiende a formar aglomerados a diferencia de las partículas que conforman el PVDF puro, mostrado en la figura 3.15.

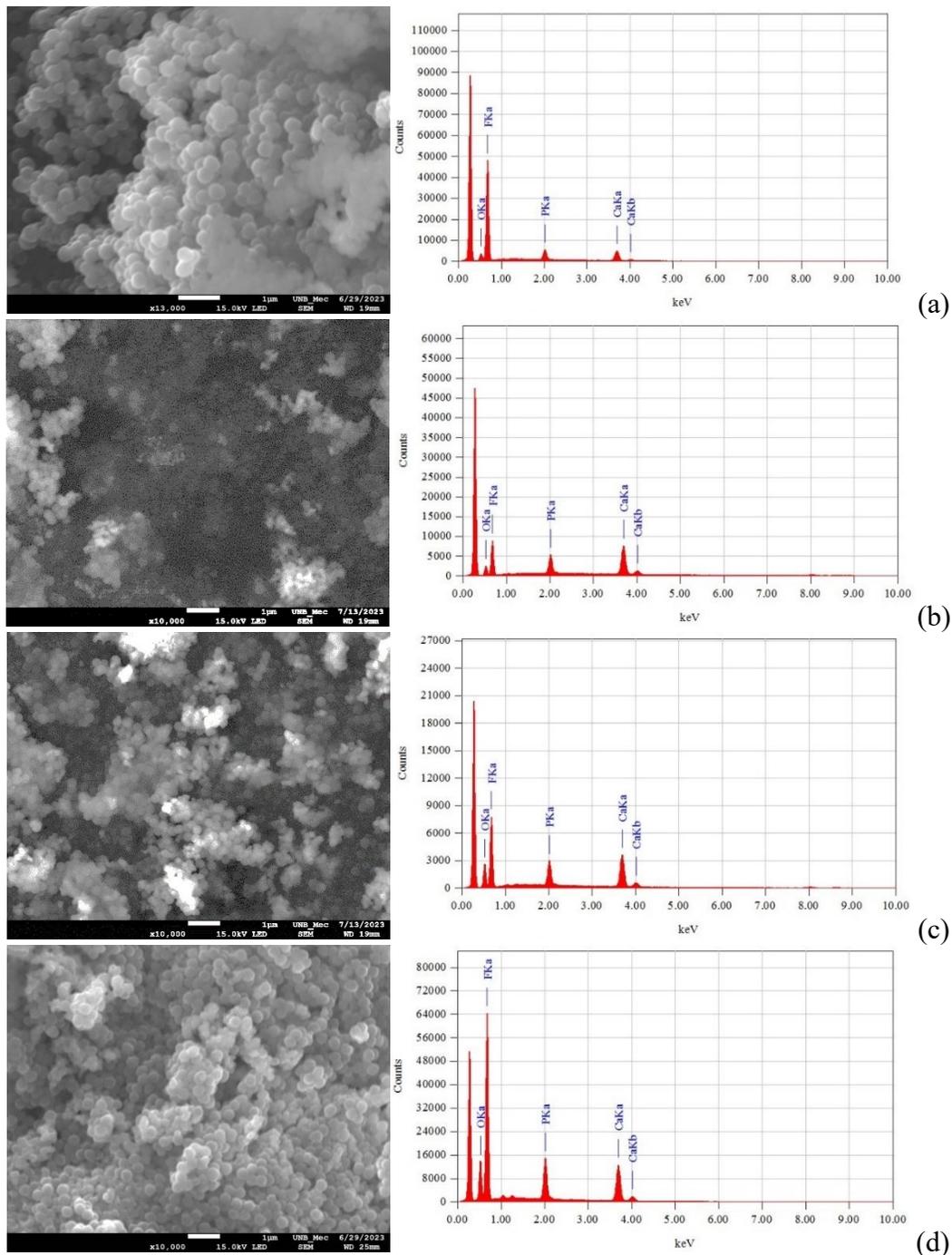


Figura 3.20: Microscopías electrónicas con EDS correspondientes a: (a) HAp-B/PVDF (5/95), (b) HAp-P/PVDF (10/90), (c) HAp-B/PVDF (25/75) en polvo y (d) HAp-P/PVDF (30/70).

En el análisis realizado a las composiciones seleccionadas se puede ver que hay presencia de los elementos que conforman el material compuesto. En la figura 3.21, se observa la distribución de cada uno de los elementos presentes en las muestras y su superposición, se observa que en los dos

casos analizados la HAp-B está homogéneamente distribuida en la zona analizada, predominando los elementos que poseen mayor porcentaje en el material compuesto.

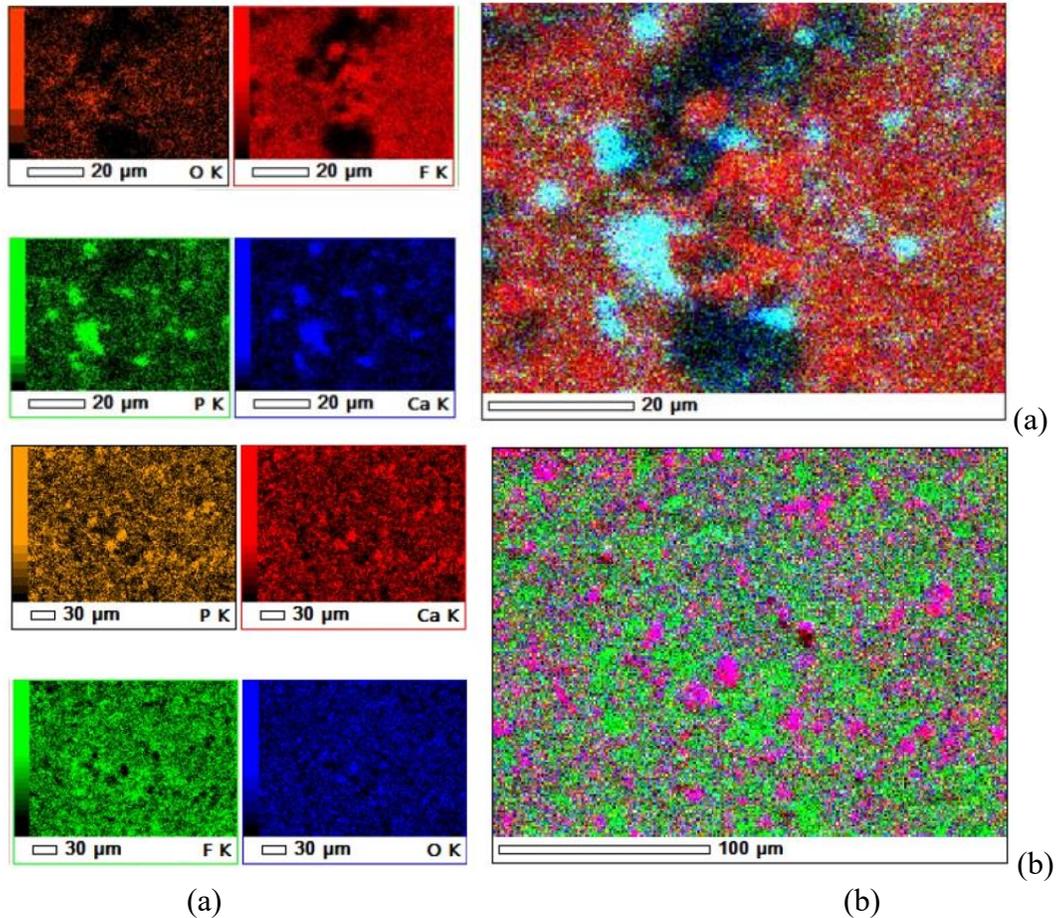


Figura 3.21. Mapeo EDS de polvos del material compuesto: (a) HAp/PVDF (5/95) y (b) HAp/PVDF (30/70).

La figura 3.22a muestra los espectros FTIR en absorbancia de polvos del material compuesto basado en HAp-h y PVDF con el mismo porcentaje de HAp/PVDF, lo que varía es la naturaleza de la HAp que en todos los casos es híbrida (contiene HAp-B y HAp-P); en las figuras 3.22c, d y e se identifican las bandas características de la HAp y del PVDF, los modos de vibración de la HAp-h son más intensos en FTIR que los del PVDF tal como se observó en la figura 3.16, y fue discutida en ese apartado, este comportamiento en la diferencia de la intensidad de las bandas ha sido reportado [5]. La presencia de la HAp, cuando se forma el compuesto HAp/PVDF, induce la formación y promueve la cristalización de la fase  $\beta$  del PVDF. Debido a la fuerte interacción entre

la HAp y el PVDF, el PVDF puede promover la nucleación heterofásica en la superficie de la HAp, lo que es beneficioso para la formación de la fase  $\beta$  [47]. La figura 3.22b muestra los diferentes porcentajes de fase  $\beta$  alcanzada en el material compuesto 30HAp/70PVDF; el mayor porcentaje de fase  $\beta$  se logró cuando la HAp mayoritaria es de naturaleza porcina (80HAp-P/20HAp-B, 47,86%), lo que puede deberse al menor tamaño de partícula de esta HAp-P lo que aporta más fuentes de nucleación de la fase  $\beta$ . Para la muestra con una con 50HAp-P/50HAp-B se obtuvo un 46,70% de fase  $\beta$  y para la muestra con un contenido mayoritario de HAp de origen bovino, 20HAp-P/80HAp-B, se obtuvo un 43,85 % de fase  $\beta$ . En todos los casos se vio favorecida la formación de la fase electroactiva  $\beta$ .

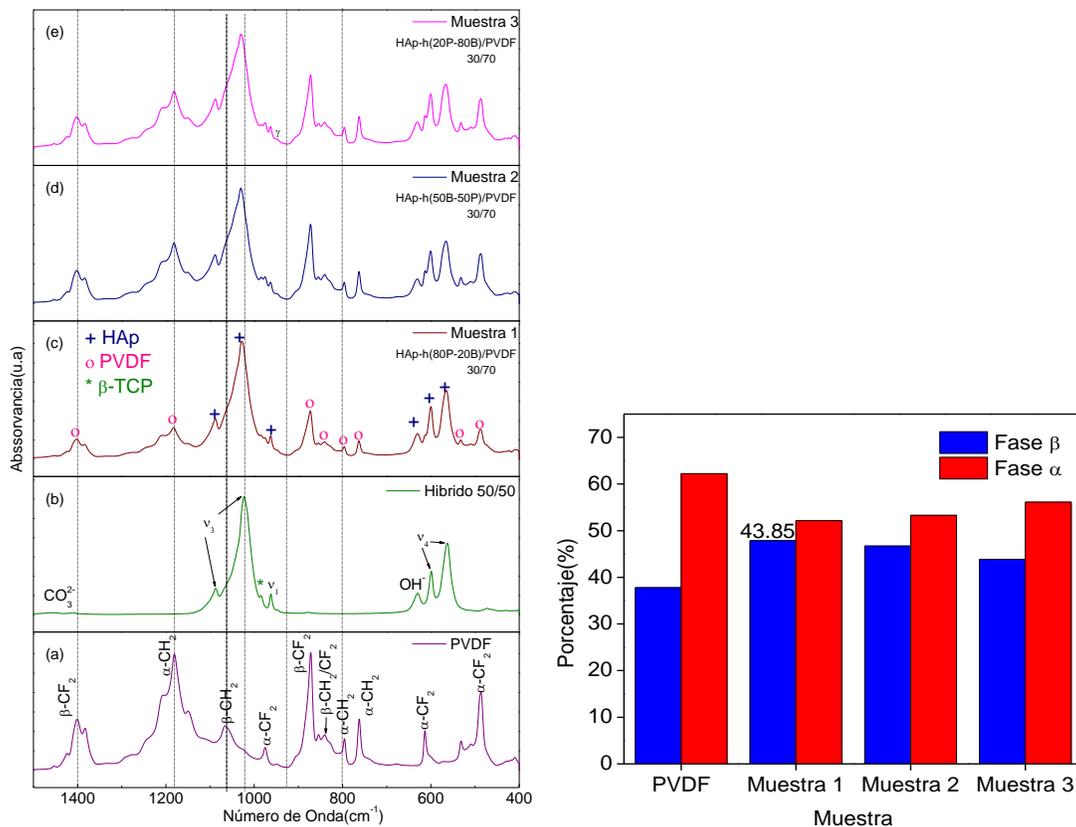


Figura 3.22. (a) Espectros FTIR de compuestos en polvo de HAp-h/PVDF; (b) porcentajes de fase  $\alpha$  y  $\beta$  presentes en el material compuesto.

### 3.3.2 Caracterización del compuesto HAp/PVDF conformado por slip casting

La figura 3.23 muestra los espectros FTIR correspondientes a las membranas compuestas de HAp-B/PVDF y HAp-P/PVDF. Al comparar el espectro del PVDF puro con los espectros del material

compuesto se observa una notable disminución de las bandas a 613, 762, 796, 975, 1182 y 1382  $\text{cm}^{-1}$ , asociadas a la fase  $\alpha$ , así como un notorio incremento de la banda a 840  $\text{cm}^{-1}$  característica de las fases electroactivas  $\beta$  o  $\gamma$ , y un ligero incremento de la banda a 1275  $\text{cm}^{-1}$ , asociada a la fase  $\beta$ . En el PVDF puro se pueden observar tres bandas entre 1213  $\text{cm}^{-1}$ -1141  $\text{cm}^{-1}$ , las cuales emergen como una sola en el material compuesto, lo que representa la transición de fase  $\alpha \rightarrow \beta$ . A 946  $\text{cm}^{-1}$  y a 1232  $\text{cm}^{-1}$  surgen nuevas bandas asociadas a la fase  $\gamma$ ; alrededor de 1454 surge una banda de pequeña intensidad asociada con la existencia de un defecto en la cadena polimérica [28]. En cuanto a las bandas correspondientes a la HAp, en los compuestos se observa que las bandas correspondientes al grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  ubicadas entre 1100  $\text{cm}^{-1}$  y 930  $\text{cm}^{-1}$  experimentan una fuerte deformación cuando se tiene un pequeño porcentaje de HAp y a medida que aumenta el porcentaje en el compuesto vuelve a su forma inicial. Las bandas ubicadas entre 645 y 540  $\text{cm}^{-1}$  se intensifican cuando las concentraciones de HAp en el compuesto son superiores al 15%.

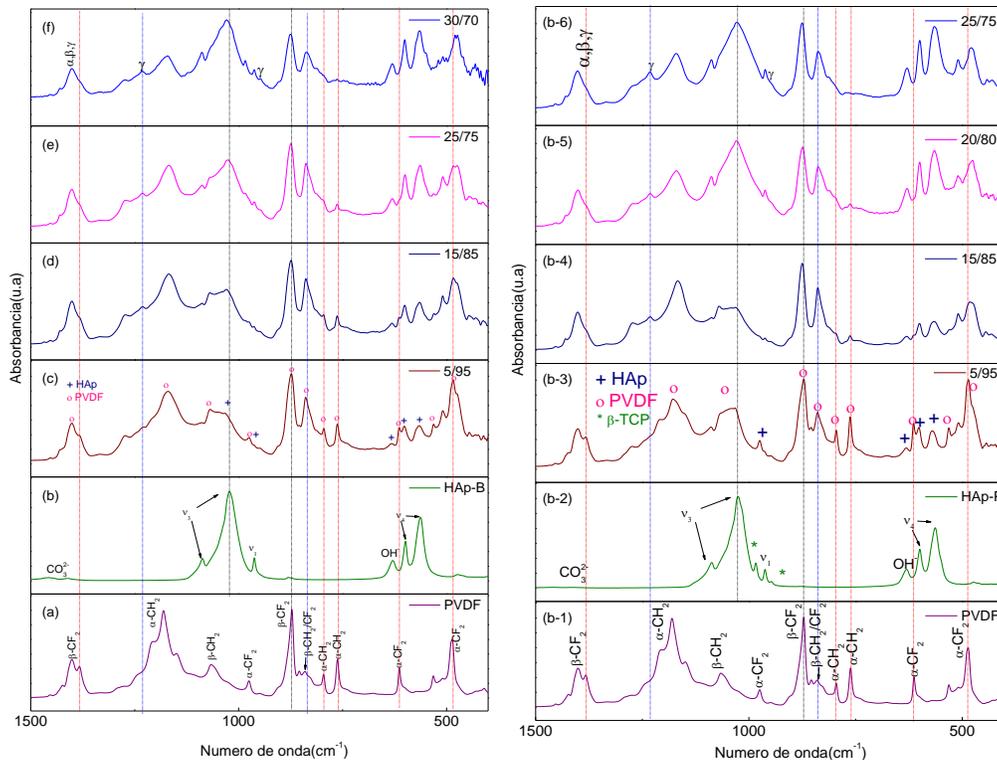


Figura 3.23. Espectro FTIR de membranas de: (a) HAp-B/PVDF y (b) HAp-P/PVDF

La figura 3.24 muestra los porcentajes de las fases  $\alpha$  y  $\beta$  en las membranas de HAp-B/PVDF (3.24a) y HAp-P/PVDF (3.24b). La disolución del PVDF en DMSO y la adición conjunta de la HAp potenciaron la formación de la fase electroactiva  $\beta$ . Este resultado indica que el HAp actuó

como agente nucleante favoreciendo la formación de la fase  $\beta$ , debido al enlace de hidrógeno entre el  $-\text{OH}$  de la HAp y el dipolo del grupo  $-\text{CF}_2$  del PVDF; los enlaces de hidrógeno pueden promover la reorientación del polímero e inducir la transición de la fase  $\alpha \rightarrow \beta$ . Estos enlaces de hidrógeno podrían promover la polarización espontánea de la cadena molecular del PVDF formando la fase  $\beta$  piezoeléctricamente activa, potenciando así la piezoelectricidad [85]. Para todas las composiciones se obtuvo un porcentaje superior al 50% de la fase  $\beta$ -PVDF; los compuestos que mejor resultado presentaron fueron HAp-B/PVDF (25/75) con 64,75% de fase  $\beta$ -PVDF y HAp-P/PVDF (15/85) con 71,04% fase  $\beta$ -PVDF.

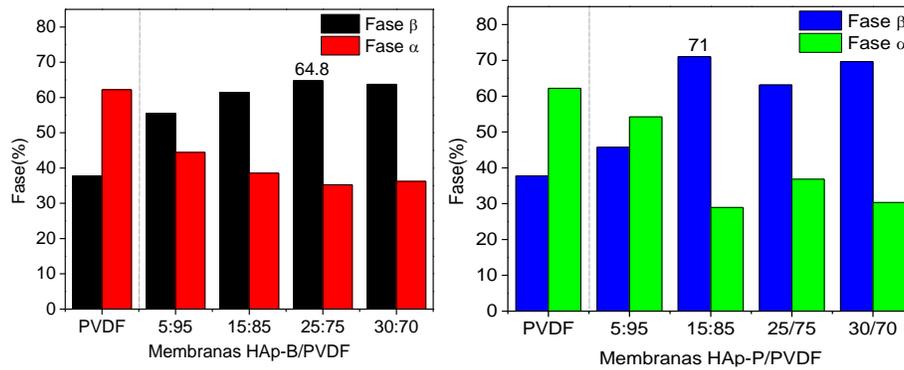


Figura 3.24. Porcentajes de fases  $\alpha$  y  $\beta$  en membranas de: (a) HAp-B/PVDF y (b) HAp-P/PVDF.

En la figura 3.25 se observa la micrografía con EDS de la membrana del compuesto 15HAp-P/85PVDF, se puede observar que la membrana no es porosa y es homogénea, lo que demuestra que el procesamiento por slip casting es un método que favorece la distribución homogénea de la HAp en la matriz del PVDF. El análisis por EDS nos muestra la presencia de HAp natural con trazas de Mg, S y Na y de PVDF. En la figura 3.26a se muestran los espectros FTIR correspondientes a las membranas del compuesto 30HAp-h/70PVDF mostrados en la tabla 2.2. De manera similar que las membranas anteriormente analizadas, se evidencia una disminución notoria de las bandas pertenecientes a la fase  $\alpha$  acompañada del incremento de las fases electroactivas  $\beta$  y  $\gamma$ . Como se puede observar en la figura 3.26(b) los porcentajes de fase  $\beta$ -PVDF son superiores al 70% para todas las composiciones analizadas, siendo que la muestra con un contenido de 50HAp-B/50HAp-P alcanzó el mayor porcentaje de fase  $\beta$ -PVDF (75,1%), seguido por la composición 20HAp-B/80HAp-P (73,5%) y el menor porcentaje fue el de la composición 20HAp-B/80HAp-P (70,3%). Como mencionamos, la presencia de partículas cerámicas en el compuesto HAp-PVDF favorece la formación de la fase electroactiva  $\beta$ . Aunque el mecanismo de nucleación

no está claramente establecido, la mayoría de los autores apuntan a que el factor esencial para la nucleación de la fase  $\beta$  en los compuestos de PVDF es la interacción electrostática entre las partículas con un potencial superficial negativo y los grupos  $-\text{CH}_2$  con densidad de carga positiva; en ocasiones, también se atribuye a la interacción entre la superficie de las partículas cargadas positivamente y los dipolos  $\text{CF}_2$  de las cadenas del PVDF [89].

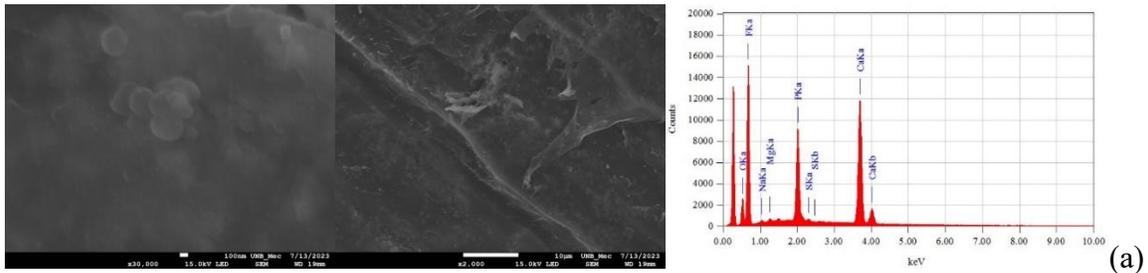


Figura3.25. Microscopía electrónica de barrido con EDS de la membrana HAp-P/PVDF(15/85)

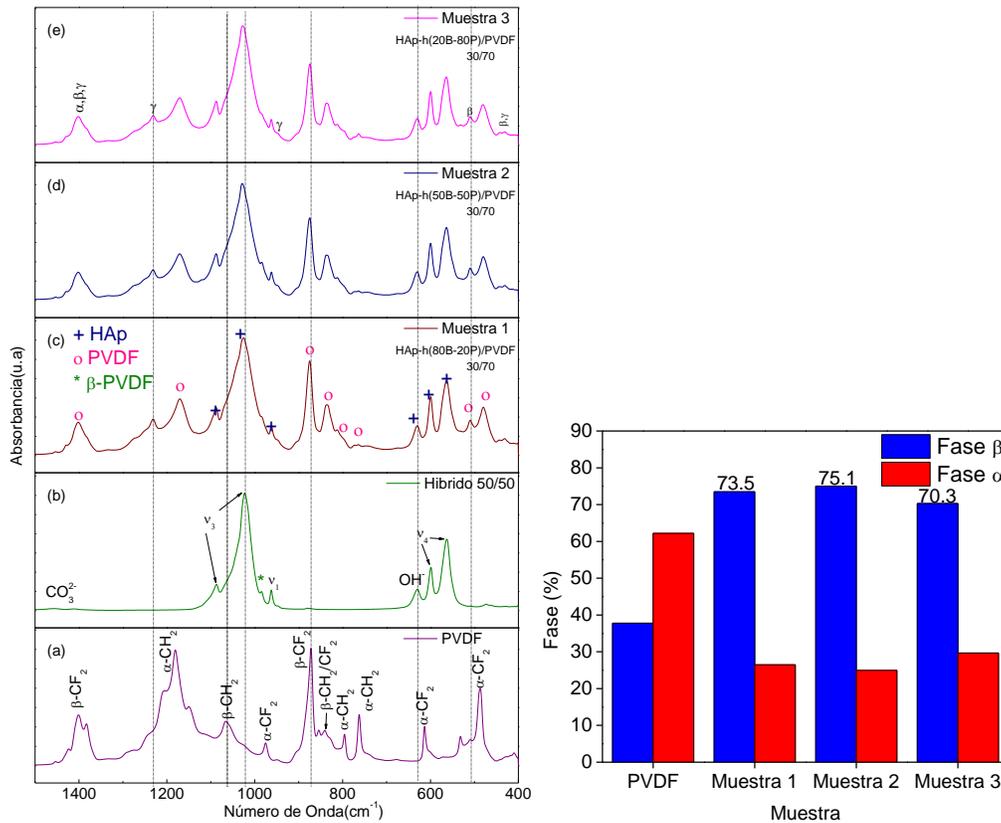


Figura 3.26. (a) Espectros FTIR membranas HAp-h/PVDF y (b) cuantificación fases  $\alpha$  y  $\beta$  en las membranas

En la figura 3.27 se observa la micrografía con EDS de la membrana de la muestra 1, se puede observar la distribución homogénea de la HAp híbrida en la matriz del PVDF, al igual que en el

caso anterior se puede afirmar que el procesamiento por slip casting es un método que favorece la distribución homogénea de la HAp en la matriz del PVDF. El análisis por EDS nos muestra la presencia de HAp y de PVDF, no hay evidencia de los elementos traza de la HAp natural.

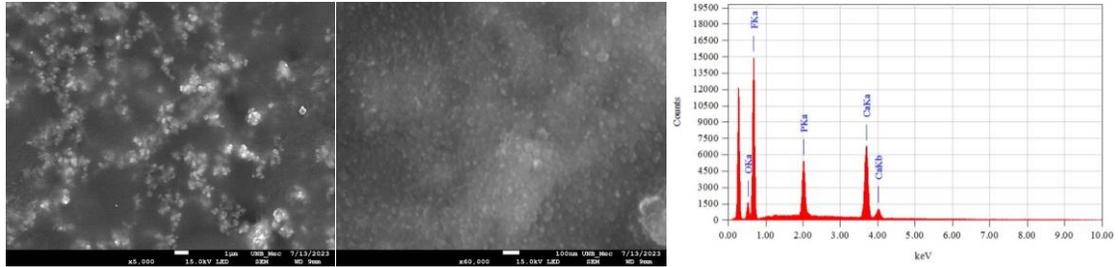


Figura 3.27. Microscopía electrónica de barrido con EDS de la membrana correspondiente a la muestra 2.

### 3.3.3 Caracterización del compuesto HAp/PVDF conformado en pastillas

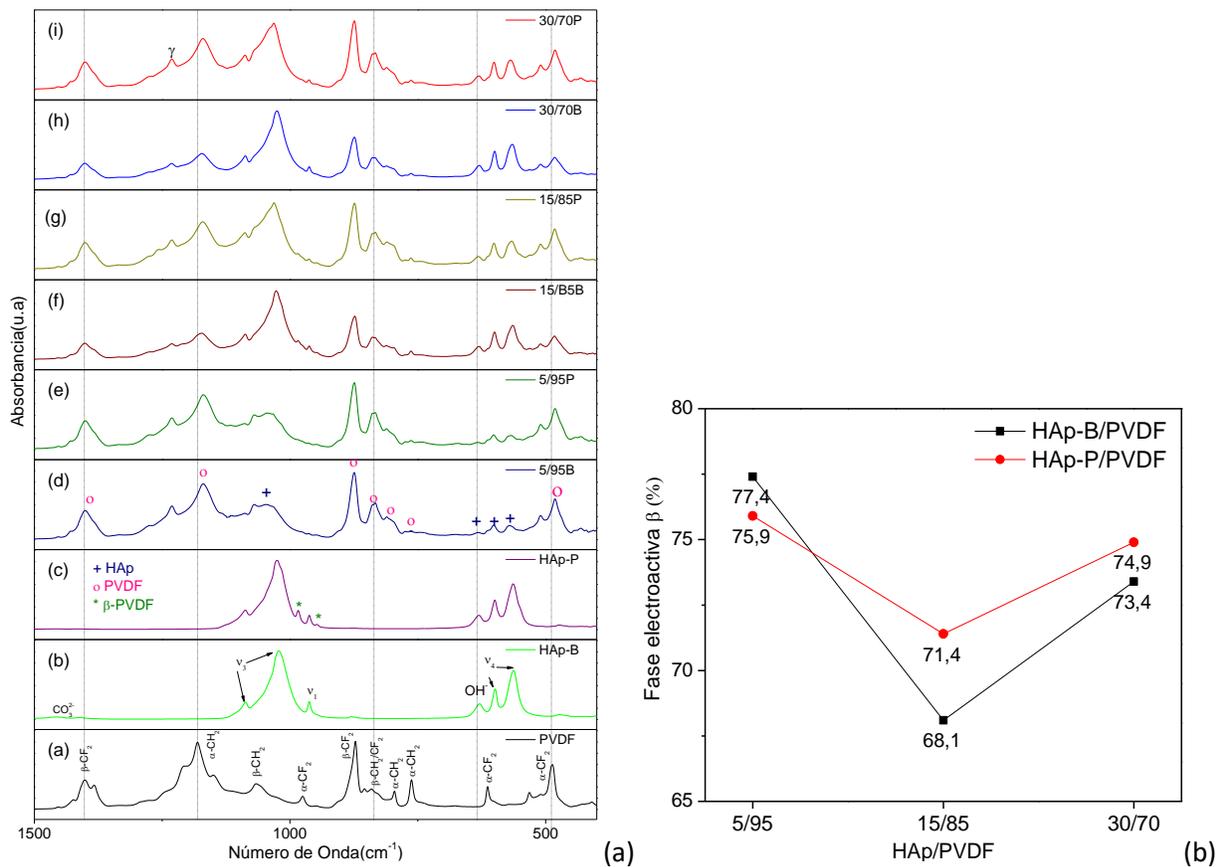


Figura 3.28. análisis FTIR de las pastillas. (a) espectros FTIR y (b) porcentaje de fase electroactiva  $\beta$ .

Se caracterizaron pastillas del compuesto HAp/PVDF en concentraciones 5/95, 15/85 y 30/70 utilizando HAp-B y HAp-P como se muestra a continuación. En la figura 3.28a se pueden observar los espectros infrarrojos de las pastillas para las seis composiciones analizadas. Como se puede observar los espectros son similares a los presentados por el material compuesto obtenido por el método de slip casting. Los grupos funcionales son similares para las mismas composiciones, por lo que el análisis es similar al presentado en el apartado 3.3.2. En la figura 3.28b se puede observar el porcentaje de fase  $\beta$  en todas las composiciones; de lo que se puede concluir que independientemente del método de conformado la transición  $\alpha \rightarrow \beta$  se favorece.

La figura 3.29 presenta los resultados del ensayo Vickers a las pastillas formadas por HAp-B/PVDF y HAp-P/PVDF en proporciones 5/95, 15/85 y 30/70 tratadas a 170°C. La microdureza incremento con la adición de HAp, presentándose un mayor aumento en los compuestos formados por HAp-B que los formados con HAp-P. De acuerdo con Magalhães y Nascimento, este comportamiento podría justificarse porque además de la presión de compactación, otro factor que influye significativamente en los resultados está relacionado con la adición de HAp puesto que sirvió como refuerzo para la matriz polimérica [90, 91]. Así mismo, los resultados obtenidos pueden ser comparables con estudios realizados por Walden y colaboradores, quienes reportan un valor medio de 27Hv para el hueso cortical [92].

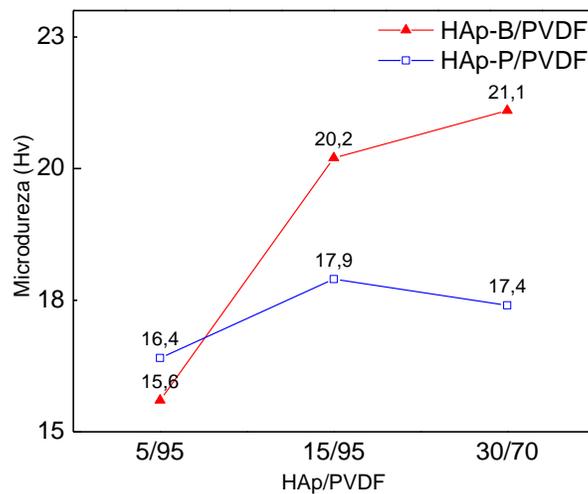


Figura 3.29. Microdureza Vickers de pastillas HAp/PVDF

En la figura 3.30 se presenta la microscopía óptica realizada a las pastillas; las figuras (a) y (b) son las imágenes correspondientes a las muestras que presentan mayor porcentaje de PVDF, se ve claramente que el porcentaje de HAp no es ópticamente detectado. En las imágenes (c) y (d) el porcentaje de HAp aumentó a 15% y se detecta la porosidad que genera el polvo cerámico en la matriz del polímero. Para la mayor concentración de HAp (30%) se presentan las imágenes (e) y (f), la porosidad generado por el polvo aumenta y en el momento de fracturarse la muestra experimenta laminación.

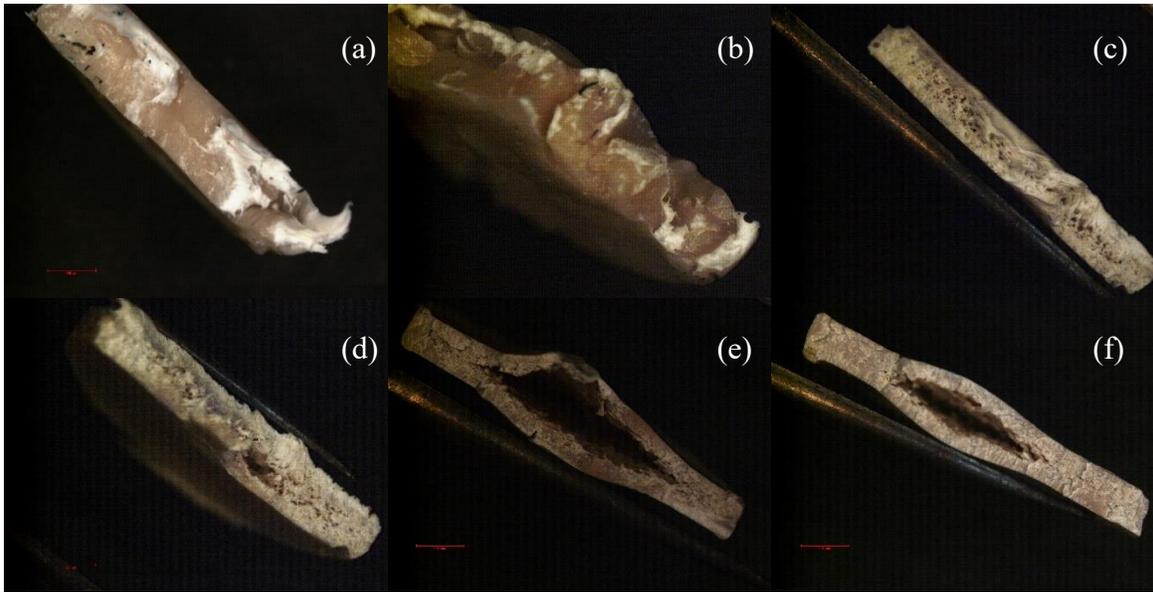


Figura 3.30 Imágenes microscopía óptica de pastillas HAp/PVDF. (a)5/95B, (b) 5/95P, (c) 15/85B, (d) 15/85P, (e) 30/70B y (f) 30/70P.

La figura 3.31 muestra la superficie de la pastilla compuesta por HAp-B/PVDF (5/95), se puede observar una superficie homogénea. El análisis EDS muestra la presencia de los elementos característicos del compuesto como son el F, P y Ca, los elementos en menor porcentaje que contiene la HAp-B pueden no ser detectados por el pequeño porcentaje de HAp de la composición analizada.

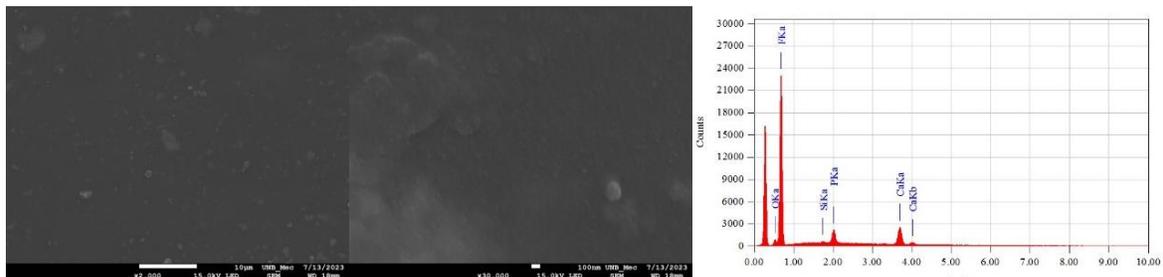


Figura 3.31. Microscopía pastilla compuesto HAp-B/PVDF (5/95)

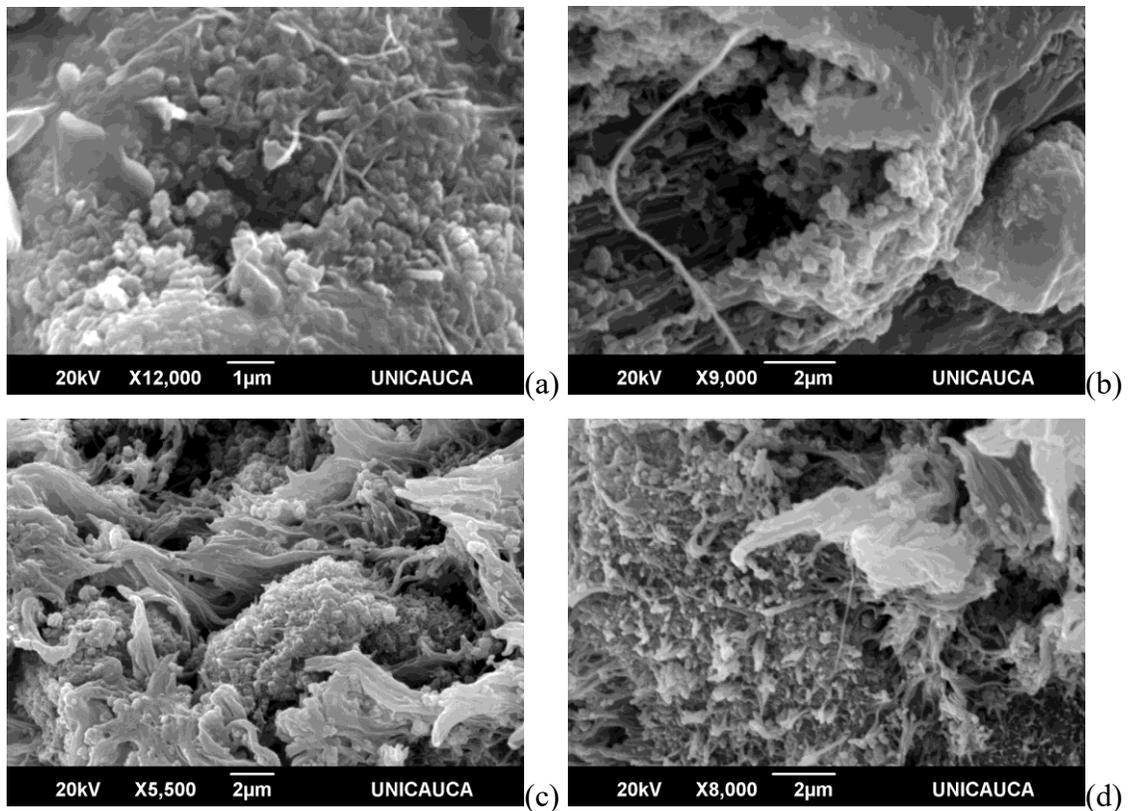


Figura 3.32. microscopia de fracturas de pastillas en composiciones: (a) HAp-B/PVDF (5/95), (b) HAp-B/PVDF (15/85), (c) HAp-B/PVDF (30/70) y (d) HAp-P/PVDF (30/70).

La figura 3.32 muestra las imágenes SEM obtenidas para la fractura de las pastillas de HAp/PVDF. En las imágenes de fractura se observan las partículas esféricas correspondientes a la morfología del PVDF en las composiciones 5/95 y 15/70, en la composición 30/70 se observa la formación de fibras que pueden estar asociadas a la fundición del PVDF y al proceso de fractura.

La porosidad del material es un parámetro relevante para su uso en regeneración ósea ya que aumenta la accesibilidad de las células y vasos sanguíneos dentro del área injertada. Mediante ensayos de micro-CT se midió la porosidad de las muestras y se observó la distribución de poros. La figura 3.33 muestra las imágenes obtenidas al realizar micro-CT a las pastillas con las concentraciones de HAp/PVDF (HAp-B y HAp-P) 5/95, 15/85 y 30/70. La primera columna en todas las gráficas corresponde a la imagen de una región paralela a la superficie de la muestra, la segunda a un subvolumen y la tercera a la red de poros del subvolumen. En las imágenes de la primera columna en (b) y (d) se observa claramente una compactación no uniforme de la muestra,

apareciendo regiones más compactas, característica del gradiente de densidad que resulta del prensado uniaxial.

En la imagen de la segunda columna correspondiente al subvolumen analizado, se identifican dos regiones, los pixeles más claros corresponden al material menos denso (PVDF); se puede observar que los poros de los compuestos fabricados con HAp-B están distribuidos de forma más homogénea en el subvolumen comparados con los compuestos obtenidos con la HAp-P.

Las imágenes de la tercera columna están compuestas por puntos que representan la porosidad presente en las muestras. Las figuras asociadas a la HAp-B presentan poros mayores y mejor distribuidos, mientras que las muestras fabricadas con HAp-P presentan poros pequeños, con distribución poco homogénea y aislados. Esto puede ser debido a la diferencia en el tamaño de partícula, ya que la HAp-P posee un tamaño menor y el proceso de densificación por prensado uniaxial puede hacer que la densificación sea más eficiente y su posterior tratamiento térmico con el PVDF sea más efectivo en el momento de la interacción polímero-cerámico. Como se mostró en la tabla 1.4, la temperatura de fusión del PVDF se encuentra entre 160 y 172°C, y la temperatura con la cual fueron conformadas las pastillas fue de 170°C, por lo que el polímero puede haberse fundido “amarrando” las pequeñas partículas.

Los biomateriales utilizados en cirugías ortopédicas, maxilofaciales y odontológicas para rellenar pérdidas óseas localizadas son el soporte de la osteoconducción que permite a los osteoblastos sintetizar hueso nuevo en la superficie; para un determinado biomaterial óseo, su cantidad, microarquitectura, grado de anisotropía, porosidad (conectada o no), son factores importantes a considerar. En un material, la porosidad representa la cantidad de cavidades vacías, este parámetro está relacionado con las propiedades mecánicas del mismo [93]. En la tercera columna de todas las figuras, se observa la red de poros del subvolumen, la cual es una red de poros que no está interconectada por todo el subvolumen lo que puede influir en mejores propiedades mecánicas como se mencionó anteriormente, para regiones más pequeñas que el subvolumen, se puede identificar la red de poros identificados por su aspecto compacto muy similares a los canales de Havers presentes en algunos biomateriales de uso común [65].

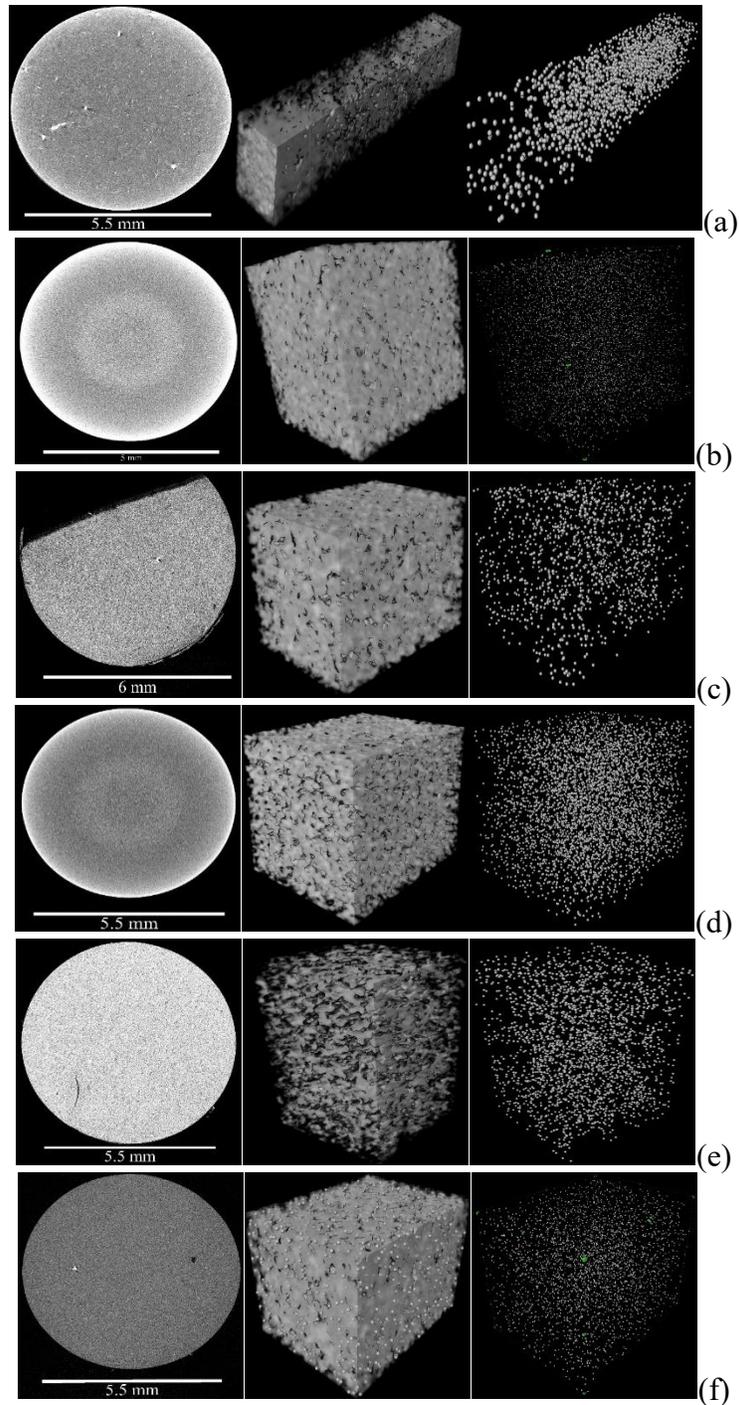


Figura 3.33. Imágenes microCT de pastillas HAp/PVDF. (a)5/95B, (b) 5/95P, (c) 15/85B, (d) 15/85P, (e) 30/70B y (f) 30/70P.

La figura 3.34 muestra los porcentajes de porosidad obtenidos a través del análisis micro-CT y el software Avizo 3D, los porcentajes de porosidad en las muestras varían entre 7,4 y 12,5% en las composiciones evaluadas. Y de acuerdo con Bjornerem, quien ha utilizado Micro-CT para calcular

la porosidad ha reportado valores entre 1 y 15% para el hueso cortical; este tipo de hueso, constituye aproximadamente el 80% del esqueleto humano [94]. La porosidad de los compuestos formados por HAp-P presentan una porosidad menor frente a los compuestos formados por HAp-B. Lo anterior puede atribuirse al menor tamaño de partícula de la HAp-P, que al compactarse y quedar inmersas en el polímero fundido generan un empaquetamiento más eficiente que el presente en el compuesto con HAp-B, para el mismo porcentaje. Cuando aumenta el porcentaje de HAp-P en el compuesto, la porosidad disminuye notablemente por lo anteriormente mencionado.

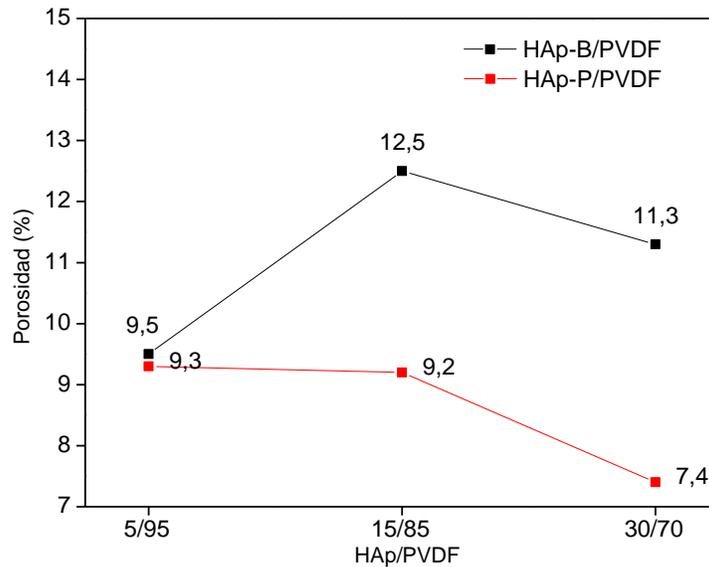


Figura 3.34. Porcentaje de porosidad obtenido por micro-CT de los compuestos HAp/PDF en pastilla.

Tabla 4.1. Parámetros de reconstrucción 3D Micro-CT

Muestra	Volumen total( $\mu\text{m}^3$ )	Subvolumen ( $\mu\text{m}^3$ )	Vóxeles del Subvolumen	Vóxeles totales	Tamaño de Vóxel ( $\mu\text{m}$ )	Volumen total de poros( $\mu\text{m}^3$ )	volumen de poro ( $\mu\text{m}^3$ )
5/95B	22124960	2112126,25	39991	418914	3,75	2112126,27	52,82
5/95P	28505842	2667394,75	44565	476256	3,91	2667394,90	59,85
15/85B	27336052	3426481	62385	497700	3,8	3426481,20	54,92
15/85P	26619888	2457484	41030	444444	3,91	2457483,87	59,89
30/70B	26563294	2996942	52097	461760	3,86	2996942,06	57,53
30/70P	28458896	2116537,75	37005	497568	3,85	2116537,83	57,20

De acuerdo con la tabla 4,1, los análisis fueron realizados tomando un Subvolumen de la muestra con un tamaño de Vóxel  $\sim 3,8\mu\text{m}$ , además, fueron calculados los volúmenes medios de poro en las

muestras los cuales se encuentran entre 52,82 y 59,89 $\mu\text{m}$ . Las muestras obtenidas presentan similitud respecto a la porosidad del hueso natural presentando una arquitectura similar tanto a biomateriales comerciales como a la estructura del hueso cortical, convirtiéndolo en un material como potencial biomaterial.

En la figura 3.35 se muestra la simulación de fluidos en los subvolumenes mostrados en la figura 3.33, es posible observar que los compuestos basados en HAp-B presentan mayores zonas donde puede depositarse un fluido y las cuales pueden favorecer el proceso de vascularización. Para los compuestos formados por HAp-P es posible observar que las zonas que pueden ser ocupadas por un fluido son menos densas, mientras que, para las muestras formadas por HAp-B estas zonas son mayores, este comportamiento puede estar asociado con el tamaño de partícula, como se observó mediante el análisis SEM, las partículas de HAp-P son de menor tamaño que las partículas de HAp-B por lo que al prensar el material este presentara una mejor compactación disminuyendo zonas vacías.

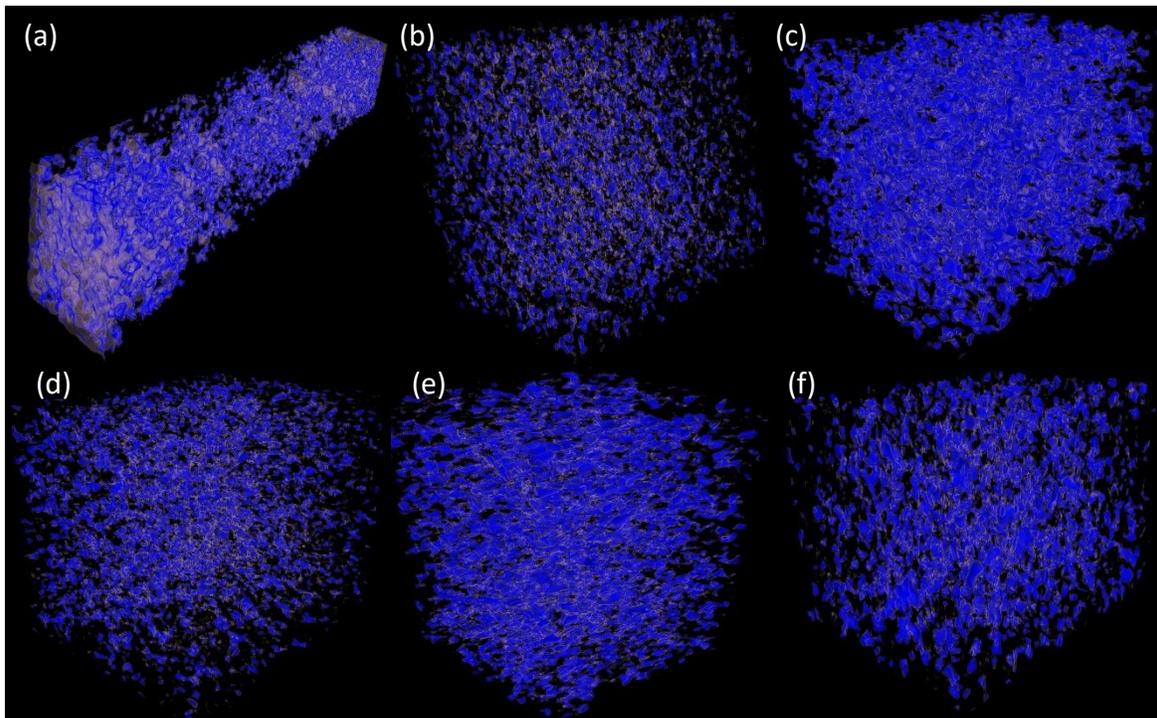


Figura 3.35. Imágenes simulación de fluidos por microCT de pastillas HAp/PVDF. (a)5/95B, (b) 5/95P, (c) 15/85B, (d) 15/85P, (e) 30/70B y (f) 30/70P.

# **Capítulo IV**

## **conclusiones**



Los resultados obtenidos mediante análisis FTIR y DRX mostraron que se obtuvo HAp a partir de hueso bovino y HAp+ $\beta$ -TCP a partir de hueso porcino a través de su calcinación a 650°C, la HAp obtenida corresponde a una HAp carbonatada tipo B, con porcentajes de  $CO_3^{2-}$  menor a 10%. Pudo comprobarse mediante análisis EDS que esta HAp natural contiene elementos traza como: Mg, Zn y Na, que de acuerdo con la literatura son beneficiosos para procesos de regeneración ósea.

De acuerdo con los análisis FTIR, a partir de la HAp natural se pueden fabricar materiales compuestos cerámica/polímero, como el HAp/PVDF, donde el polímero potencia las propiedades del conjunto por su naturaleza piezoeléctrica. El material compuesto HAp/PVDF en polvo, tiene un porcentaje pequeño de fase electroactiva lo que no lo hace un buen candidato para aplicaciones en las que se busca potenciar el efecto piezoeléctrico. Mientras que, la incorporación de HAp en la matriz del PVDF y su procesamiento mediante slip casting y prensado uniaxial potenciaron la transición del PVDF a la fase electroactiva  $\beta$ , siendo esta la fase de interés ya que beneficia el proceso de regeneración ósea, según hallazgos de otros investigadores.

Los compuestos HAp/PVDF en membrana y pastilla de acuerdo con análisis FTIR y SEM poseen propiedades estructurales y microestructurales que de acuerdo con la literatura los convierten en una buena alternativa para ser usados como biomateriales para la regeneración ósea.

Mediante ensayos de microdureza, se encontró que la adición de HAp en el PVDF y el prensado uniaxial reforzaron la matriz polimérica, obteniendo una microdureza mayor con la HAp-B.

La arquitectura de las muestras y sus valores de porosidad obtenidos mediante Micro-CT son similares a los reportados en la literatura para el hueso cortical lo que permite concluir que las pastillas obtenidas son buenas candidatas para ser usadas en regeneración ósea.

Por consiguiente, desde la experiencia personal que he adquirido a lo largo del desarrollo de este trabajo de investigación, he llegado a la conclusión que he reforzado mis conocimientos, apropiándome de ellos, en lo referente a la síntesis y obtención de biomateriales, técnicas de análisis y análisis de los resultados; profundicé desde una perspectiva tanto teórica como experimental en el área de los biomateriales para regeneración ósea, abriendo así un abanico de opciones en este campo de investigación.

En conclusión, se obtuvieron compuestos HAp/PVDF utilizando HAp obtenida de hueso bovino y porcino, con características físicas y químicas que los convierten en biomateriales potenciales para la regeneración ósea.

# Capítulo V

## Referencias



- 
- [1 ] Chen, X., Cheng, Y., & Wu, H. (2023). Recent trends in bone defect repair and bone tissue regeneration of the two-dimensional material MXene. *Ceramics International*, 49(12), 19578–19594. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.03.109>
- [2] Bosch-Rué, È., Díez-Tercero, L., Buitrago, J. O., Castro, E., & Pérez, R. A. (2023). Angiogenic and immunomodulation role of ions for initial stages of bone tissue regeneration. *Acta Biomaterialia*, 166, 14–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.06.001>
- [3] Garcia G., Victoria M., Reyes J. (2006). La Hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* (Vol. 9). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43211937005>
- [4] Oladapo, B. I., Ismail, S. O., Kayode, J. F., & Ikumapayi, O. M. (2023). Piezoelectric effects on bone modeling for enhanced sustainability. *Materials Chemistry and Physics*, 305, 127960. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.127960>
- [5] Baesso, M. L., Weinand, W. R., Santos, I. A., Guo, R., & Bhalla, A. S. (2017): Polyvinylidene fluoride/hydroxyapatite/ $\beta$ -tricalcium phosphate multifunctional biocomposite: Potentialities for bone tissue engineering. *Current Applied Physics: The Official Journal of the Korean Physical Society*, 17(5), 767–773. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2017.02.022>
- [6] Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Martin, T. J. (2008). *Principles of Bone Biology*, 3rd. ed. San Diego: Academic Press. doi: 10.3174/ajnr.A1712. PMID: PMC7051480.
- [7] Qiu, Z.-Y., Cui, Y., & Wang, X.-M. (2019). Natural Bone Tissue and Its Biomimetic. Mineralized Collagen Bone Graft Substitutes. 1–22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102717-2.00001-1>
- [8] Ansari M. (2019). Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies. *Progress in biomaterials*, 8, 223–237. <https://doi.org/10.1007/s40204-019-00125-z>
- [9] Wang, D.; Jang, J.; Kim, K.; Kim J.; Park, C. B. (2019). Tree to Bone: Lignin/Polycaprolactone nanofibers for hydroxyapatite biomineralization. *Biomacromolecules*, 20(7), 2684-2693. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b00451>

- 
- [10] Hu, C.; Ashok, D.; Nisbet, D. R.; Gautam, V. (2019). Bioinspired surface modification of orthopedic implants for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 219. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119366>
- [11] Estudios óseos. (2017). MNBLOG. Recuperado de: <http://mnappmedinuclear.blogspot.com/p/estudios.html> [30/09/2023].
- [12] Taylor, B. L.; Freeman, J. W. (2017): Strategies for Bone Grafting and Bone Tissue Engineering. In S. Sethuraman (Ed.), U. M. Krishnan (Ed.), A. Subramanian (Ed.), *Biomaterials and Nanotechnology for Tissue Engineering*. 75-90.
- [13] Clark P., Chico G., Carlos F., Zamudio F., Pereira R., Zancheta J., Castillo J. (2013). Osteoporosis en América Latina: revisión de panel de expertos. (2013). *Medwave.cl*. Recuperado el 23 de julio de 2023, de <https://www.medwave.cl/enfoques/probsp/5791.html>
- [14] Yu, X.; Tang, X.; Gohil, S. V.; Laurencin, C. T. (2015): Biomaterials for Bone Regenerative Engineering, *Advanced healthcare materials*, 4: 1268–1285
- [15] Yu, X., Tang, X., Gohil, S. V., & Laurencin, C. T. (2015). Biomaterials for Bone Regenerative Engineering. *Advanced healthcare materials*, 4, 1268–1285. <https://doi.org/10.1002/adhm.201400760>
- [16] Sohn HS, Oh JK. (2019). Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries. In *Biomaterials Research*, 23. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0157-y>
- [17] Donate, R., Paz, R., Moriche, R., Sayagués, M. J., Alemán-Domínguez, M. E., & Monzón, M. (2023). An overview of polymeric composite scaffolds with piezoelectric properties for improved bone regeneration. *Materials & Design*, 231. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matdes.2023.112085>
- [18] Levasseur, R. (2019). Fisiología del tejido óseo. *EMC - Aparato Locomotor*, 52(2), 1–25. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1286-935X\(19\)42130-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1286-935X(19)42130-8)
- [19] Thomas, T., Martin, A., & Lafage-Proust, M.-H. (2011). Fisiología del tejido óseo. *EMC - Podología*, 13, 1–17. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1762-827X\(11\)71060-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1762-827X(11)71060-4)
- [20] Chen, Y., & Li, X. (2022). The utilization of carbon-based nanomaterials in bone tissue regeneration and engineering: Respective featured applications and future prospects. *Medicine in Novel Technology and Devices*. <https://doi.org/10.1016/j.medntd.2022.100168>

- 
- [21]. Meseguer-Olmo, L., Bernabeu-Escaplez, A., Vallet-Regí, M., Aznar-Cervantes, S., Vicente-Ortega, V., Alcaraz-Baños, M., Clavel-Sainz, M., Herrera-Rodríguez, A., Lopez-Prats, F., Moraleda-Jiménez, J. M., & Meseguer-Ortiz, C. L. (2010). Ingeniería tisular del tejido óseo. Diseño y desarrollo de materiales híbridos biológicamente activos basados en vitrocerámicas para sustitución ósea. *Revista española de cirugía ortopédica y traumatología*, 54, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.recot.2009.09.003>
- [22] Reina J (2021). Farmacoterapia de la leucemia linfocítica crónica [Trabajo de grado] Universidad de Sevilla.
- [23] Ajmal, S., Athar Hashmi, F., & Imran, I. (2022). Recent progress in development and applications of biomaterials. *Materials Today: Proceedings*, 62, 385–391. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.04.233>
- [24] Yu, X., Tang, X., Gohil, S. V., & Laurencin, C. T. (2015). Biomaterials for bone regenerative engineering. *Advanced Healthcare Materials*, 4, 1268–1285. <https://doi.org/10.1002/adhm.201400760>
- [25] Pérez, R. A., Won, J.-E., Knowles, J. C., & Kim, H.-W. (2013). Naturally and synthetic smart composite biomaterials for tissue regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, 471–496. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.03.009>
- [26] López, H. C. (2015). Biomateriales: calidad de vida. *Revista VIRTUAL PRO*. No 162.
- [27] Reyes-Blas, H., Olivas-Armendáriz, I., Martel-Estrada, S. A., & Valencia-Gómez, L. E. (2019). Uso de Biomateriales Funcionalizados con Moléculas Bioactivas en la Ingeniería Biomédica. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 40. <https://doi.org/10.17488/rmib.40.3.9>
- [28] Dos Santos, G. G., Malherbi, M. S., de Souza, N. S., César, G. B., Tominaga, T. T., Miyahara, R. Y., de Mendonça, P. de S. B., Faria, D. R., Rosso, J. M., Freitas, V. F., Weinand, W. R., Dias, G. S., Santos, I. A., Cotica, L. F., & Bonadio, T. G. M. (2022). 4th Generation Biomaterials Based on PVDF-Hydroxyapatite Composites Produced by Electrospinning: Processing and Characterization. *Polymers*, 14. <https://doi.org/10.3390/polym14194190>
- [29] Intravaia, J. T., Graham, T., Kim, H. S., Nanda, H. S., Kumbar, S. G., & Nukavarapu, S. P. (2023). Smart orthopedic biomaterials and implants. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 25. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2022.100439>.

- 
- [30] Entrevista a María Vallet, catedrática emérita de Química Inorgánica. (2018). Interempresas. Recuperado de <https://www.interempresas.net/Quimica/Articulos/221017-Entrevista-a-Maria-Vallet-catedratica-emerita-de-Quimica-Inorganica.html> [30/09/2023].
- [31] Ebrahimi, M. (2019). 13 - Biomimetic principle for development of nanocomposite biomaterials in tissue engineering. In Inamuddin, A. M. Asiri, & A. Mohammad (Eds.), *Applications of Nanocomposite Materials in Orthopedics* Woodhead Publishing. pp. 287–306. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813740-6.00015-6>
- [32] Han, X., Yi, W., Chen, S., Cai, Z., Zhu, Y., Han, W., Guo, X., Shen, J., Cui, W., & Bai, D. (2023). Ultrasound-responsive smart composite biomaterials in tissue repair. *Nano Today*, 49. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2023.101804>
- [33] Jaramillo, C.; Posada, J.; Echavarría, A.; Byrne, J.; Congote, D.; Restrepo, L. (2009). Comparación de las propiedades de osteoconducción y osteointegración de una hidroxiapatita reabsorbible comercial con una hidroxiapatita reabsorbible sintetizada, *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22, 117-130.
- [34] Mohd Pu'ad, N. A. S.; Koshy, P.; Abdullah, H. Z.; Idris, M. I.; Lee, T. C. (2019). Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. *Heliyon*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01588>
- [35] Pérez, R. A., Won, J.-E., Knowles, J. C., & Kim, H.-W. (2013). Naturally and synthetic smart composite biomaterials for tissue regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, 471–496. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.03.009>
- [36] Dorozhkin, S. v. (2013). A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950. *Materials Science and Engineering: C*, 33, 3085–3110. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.04.002>
- [37] Bahloul L, AzziA, MARadi H (2020). Hydroxyapatite Produced Synthetically of Density and Porosity The of Study. *SAJ Biotechnol* 6,104.
- [38] Barakat N.A.M.; Khil M.S.; Omran A.M.; Sheikh F.A.; Kim H.Y. (2008). Extraction of pure natural hydroxyapatite from the bovine bones bio waste by three different methods. *Journal of Materials Processing Technology*, 209, 3408–3415. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2008.07.040>

- 
- [39] Pinzón, N.; Sarmiento, M.; Peña, P.; Tuta, E. (2014). Recubrimientos de hidroxiapatita biológica dopada con magnesio y reforzada con TiO<sub>2</sub>: síntesis y caracterización, *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 34, 240-250.
- [40] Ramírez, E.; Garcés, A.; Villareal, R.; Orea, G.; Pérez, M. (2011). Síntesis y análisis de la biocompatibilidad y osteoconductividad de un composito hidroxiapatita/colágeno, implantado en el sacro de un perro, *Revista Mexicana de Ingeniería Biomedica*, 32, 119-124.
- [41] Lacerda, K.; Lameiras, F.; Silva, V. (2006). Síntese e caracterização de matrizes porosas de hidroxiapatita para aplicação como fontes radioativas em braquiterapia, *Revista Escola de Minas*, 59, 217-223.
- [42] Valencia, A.; Ponce, H.; De la Torre, G.; Landeros, J. (2008). Caracterización estructural y morfológica de hidroxiapatita nanoestructurada: estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis, *Superficies y vacío*, 21, 18-21.
- [43] Firdaus Hussin, M. S., Abdullah, H. Z., Idris, M. I., & Abdul Wahap, M. A. (2022). Extraction of natural hydroxyapatite for biomedical applications-A review. *Heliyon*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10356>
- [44] Restrepo V. (2020). Influencia de la temperatura de calcinación en las propiedades cristalográficas, composicionales y morfológicas de la hidroxiapatita natural obtenida a partir de hueso ovino. [Trabajo de grado]. Universidad tecnológica de Pereira.
- [45] Arokiasamy, P., Al Bakri Abdullah, M. M., Abd Rahim, S. Z., Luhar, S., Sandu, A. V., Jamil, N. H., & Nabiałek, M. (2022). Synthesis methods of hydroxyapatite from natural sources: A review. *Ceramics International*, 48, 14959–14979. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.03.064>
- [46] Kang, G.-D., & Cao, Y.-M. (2014). Application and modification of poly (vinylidene fluoride) (PVDF) membranes—A review. *Journal of Membrane Science*, 463, 145–165. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.03.055>
- [47] Wu, C., Tang, Y., Mao, B., Zhao, K., Cao, S., & Wu, Z. (2021). Rapid apatite induction of polarized hydrophilic HA/PVDF bio-piezoelectric coating on titanium surface. *Surface & Coatings Technology*, 405. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.126510>
- [48] Malherbi, M. S., Dias, L. C., Lima, M. S. Z., Ribeiro, L. G., Freitas, V. F., Bonadio, T. G. M., Silva, L. M., Souza, G. B., Volnistem, E. A., Rosso, J. M., Silva, D. M., Cótica, L. F., Weinand, W. R., & Santos, I. A. (2022). Electrically stimulated bioactivity in hydroxyapatite/ $\beta$ -tricalcium

---

phosphate/polyvinylidene fluoride biocomposites. *Journal of Materials Research and Technology*, 20, 169–179. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.06.151>

[49] Fabricio G. (2012). Análise de polifluoreto de vinilideno (PVDF) sob carregamento cíclico. [Tesis de maestría]. Universidade Federal do Rio de Janeiro

[50] Wu, T., Jin, H., Dong, S., Peng, X., Xu, H., Lu, L., Fang, Z., Huang, S., Tao, X., Shi, L., & Liu, S. (2020). A Flexible Film Bulk Acoustic Resonator Based on -Phase Polyvinylidene Fluoride Polymer. *Sensors*, 20, 1346. <https://doi.org/10.3390/s20051346>

[51] Badillo E. (2021). Síntesis por molienda mecánica, caracterización y propiedades de sulfuros de cobre. [tesis de maestría]. Centro de investigación y de estudios avanzados del instituto politécnico nacional.

[52] Allen A (1971). *High Temperature Oxides. Part IV Refractory Glasses, Glass-Ceramics, and ceramics*. New York y London. Academic Press INC.

[53] Reed J. (1995): *Principles of ceramics processing*. A willey Interscience. New York.

[54] Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch S. R. (2008): *Principios de análisis instrumental*, Santa Fe, México, Cengage Learning Editores.

[55] Young, R. J.; Novell, P. A. (1981): *Introduction to Polymers* Chapman & Hall. 2da Edición, Londres.

[56] Cullity, B. D. (1978): *Elements of X-ray diffraction*, Addison-Wesley publishing company, inc., 2nd edition, U.S.

[57] Kittel, C. (2003): *Introducción a la física del estado sólido*, 3ª edición, Editorial Reverté S. A., España.

[58] Taraka, Y.; Venkateswara, Rao, K.; Sai Kumar, V. S.; Siva Kumari, B.; (2014): X-Ray Analysis by Williamson-Hall and Size-Strain Plot Methods of ZnO Nanoparticles with Fuel Variation, *World Journal of Nano Science and Engineering*, 4, 21-28.

[59] Suryanarayana, C.; Norton, M.G. (1998): *X-ray Diffraction: A Practical Approach*, Part II Experimental Modules 6, New York: Plenum Press.

[60] Isac. L (2008). GBS. El microscopio óptico. Recuperado de: [http://www.biblio tecagbs.com/archivos/027\\_032\\_CAP2\\_GBS.pdf](http://www.biblio tecagbs.com/archivos/027_032_CAP2_GBS.pdf)

[61] Falomir L., Fuentes F. (2013): *Microscopia Óptica*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.

- 
- [62] Berenice Anina Dedavid, C. I. G. G. M. (2007): Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil.
- [63] Saadatkah, N., Garcia, A. C., Ackermann, S., Leclerc, P., Latifi, M., Samih, S., Chaouki, J. (2019). Experimental Methods in Chemical Engineering: Thermogravimetric Analysis—TGA. The Canadian Journal of Chemical Engineering. doi:10.1002/cjce.23673
- [64] Arroyave C. (1985). El ensayo de microdureza. Revista facultad de ingeniería, Universidad de Antioquia. Volumen 2.
- [65] Chappard, D., Kün-Darbois, J.-D., & Guillaume, B. (2020). Computational fluid dynamics simulation from microCT stacks of commercial biomaterials usable for bone grafting. Micron, 133. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micron.2020.102861>
- [66] Azzallou, R., Ouerghi, O., Geesi, M. H., Riadi, Y., Taleb, M. A., Mamouni, R., Lazar, S., Kaiba, A., Kamal, M., & Villain, S. (2022). Bovine bone-derived natural hydroxyapatite-supported ZnCl<sub>2</sub> as a sustainable high efficiency heterogeneous biocatalyst for synthesizing amidoalkyl naphthols. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 163, 110533. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpics.2021.110533>
- [67] Giraldo-Betancur, A. L., Espinosa-Arbelaez, D. G., del Real-López, A., Millan-Malo, B. M., Rivera-Muñoz, E. M., Gutierrez-Cortez, E., Pineda-Gomez, P., Jimenez-Sandoval, S., & Rodriguez-García, M. E. (2013). Comparison of physicochemical properties of bio and commercial hydroxyapatite. Current Applied Physics, 13, 1383–1390. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cap.2013.04.019>
- [68] Poovendran, K., & Wilson, K. s. (2019). Amalgamation and characterization of porous hydroxyapatite bio ceramics at two various temperatures. Materials Science in Semiconductor Processing, 100, 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2019.05.006>
- [69] Wang, M., Liu, Y., Yao, Y., Han, L., & Liu, X. (2020). Comparative evaluation of bone chars derived from bovine parts: Physicochemical properties and copper sorption behavior. Science of the Total Environment, 700. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134470>
- [70] Payán Valero, A., bedoya, juan, cepeda, yesenia, ruiz, lorena, valencia, juliana, nieva, karen, Pustovrh, M., & Valencia, C. (2018). Cultivo celular de una apatita bovina. Informador Técnico, 82. <https://doi.org/10.23850/22565035.1376>

- 
- [71] Barba, M.C., Acevedo, N.M., Cortés, R.P., & Lima, E.I. (2006): Caracterización de hueso de bovino anorgánico: Nukbone. *Acta Ortop Mex* 20. 150-155.
- [72] Forero A. (2017): Influencia de la temperatura en hidroxiapatita extraída a partir de hueso de cerdo. [Tesis de maestría]Universidad Nacional de Colombia.
- [73] Clavijo-Mejía, G. A., Hermann-Muñoz, J. A., Rincón-López, J. A., Ageorges, H., & Muñoz-Saldaña, J. (2020). Bovine-derived hydroxyapatite coatings deposited by high-velocity oxygen-fuel and atmospheric plasma spray processes: A comparative study. *Surface and Coatings Technology*, 381. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.125193>
- [74] Landi, E.; Tampieri, A.; Celotti, G.; Sprio, S. (2000): Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites, *Journal of the European Ceramic Society*, 20, 2377-2387.
- [75] Madupalli, H., Pavan, B., Tecklenburg, J. (2017). Carbonate substitution in the mineral component of bone: Discriminating the structural changes, simultaneously imposed by carbonate in A and B sites of apatite. *Journal of Solid State Chemistry*, 255, 27–35. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jssc.2017.07.025>
- [76] Murugan, R., Ramakrishna, S., & Panduranga Rao, K. (2006). Nanoporous hydroxy-carbonate apatite scaffold made of natural bone. *Materials Letters*, 60, 2844–2847. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.01.104>
- [77] Pareja, N. M., Escobar, D. M., Ossa, C. P., & Echavarría, A. (2008). Síntesis y caracterización de hidroxiapatita microporosa, comparación con un producto. *Revista Fac. Ing. Univ. Antioquia*.
- [78] Modolon, H. B., Inocente, J., Bernardin, A. M., Montedo, O. R., Arcaro, S. (2021): Nanostructured biological hydroxyapatite from Tilapia bone: A pathway to control crystallite size and crystallinity, *Ceramics International*, 47, 27685–27693.
- [79] Singh, P., Borkar, H., Singh, B. P., Singh, V. N., Kumar, A. (2014): Ferroelectric polymer-ceramic composite thick films for energy storage applications, *AIP Advances*, 4,. [doi:10.1063/1.4892961](https://doi.org/10.1063/1.4892961).
- [80] Cai, X., Lei, T., Sun, D., & Lin, L. (2017). A critical analysis of the  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  phases in poly(vinylidene fluoride) using FTIR, *RSC Advances*, 7, 15382–15389. <https://doi.org/10.1039/c7ra01267e>

- 
- [81] Cai, X., Lei, T., Sun, D., & Lin, L. (2017). A critical analysis of the  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  phases in poly(vinylidene fluoride) using FTIR, RSC Advances, 7, 15382–15389. <https://doi.org/10.1039/c7ra01267e>
- [82] Gardingo Abreu, F. (2012). Análise De Polifluoreto De Vinilideno (PVDF) Sob Carregamento Cíclico. [Tesis de maestría]. Universidade Federal do Rio de Janeiro
- [83] Jabbarnia, A., & Asmatulu, R. (2015). Synthesis and characterization of PVdF/PVP-based electrospun membranes as separators for supercapacitor applications. Journal of Material Science and Technology Research, 2, 43-51.
- [84] Singh, P., Borkar, H., Singh, B. P., Singh, V. N., & Kumar, A. (2014): Ferroelectric polymer-ceramic composite thick films for energy storage applications. AIP Advances, 4. <https://doi.org/10.1063/1.4892961>
- [85]. Wang, S., Tong, W., Li, Y., Zhang, P., Liu, Y., Chen, Y., & Zhang, Y. (2023). Contributions of piezoelectricity and triboelectricity to a hydroxyapatite/PVDF–HFP fiber-film nanogenerator. Nano Energy, 105. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2022.108026>
- [86] Ryu, S. R.; Noda, I.; Jung, Y. M. (2011): Positional-Fluctuation-of-IR-Absorption-Peaks-Frequency-Shift-of-a-Single-Band-or-Relative-Intensity-Changes-of-Overlapped-Bands, 43, American Laboratory.
- [87] Liu, X. Espectro IR y bandas de absorción características, Kwantlen Polytechnic University via Kwantlen Polytechnic University, license CC BY-NC-SA 4.0.
- [88] The HighScore suite, T. Degen, M. Sadki, E. Bron, U. König, G. Nénert(2014). Difracción de polvo, Volumen 29. 13-18.
- [89] Sebastian, M. S.; Larrea, A.; Gonçalves, R.; Alejo, T.; Vilas, J. L.; Sebastian, V.; Martins, P.; Lanceros-Mendez, S. (2016): Understanding nucleation of the electroactive  $\beta$ -Phase of poly(vinylidene fluoride) by nanostructures, RSC Advances, doi: 10.1039/C6RA24356H
- [90] W. J. do Nascimento (2009). Preparação e caracterização físico-mecânica, microestrutural e térmica de compósitos à base de nióbio e hidroxiapatita. [tesis de maestría]. Universidade Estadual de Maringá.
- [91] Magalhães I. (2015). Preparação e caracterizações físicas do compósito bioativo PVDF-HAP com potencial para implante ósseo. [Tesis de maestría]. Universidade Estadual de Maringá.

- 
- [92] Walden, S. J., Evans, S. L., & Mulville, J. (2017). Changes in Vickers hardness during the decomposition of bone: Possibilities for forensic anthropology. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 65, 672–678. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.09.037>
- [93] N'Diaye, M., Degeratu, C., Bouler, J.-M., & Chappard, D. (2013). Biomaterial porosity determined by fractal dimensions, succolarity and lacunarity on microcomputed tomographic images. *Materials Science and Engineering: C*, 33, 2025–2030. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.020>
- [94] Bjornerem A. (2016). The clinical contribution of cortical porosity to fragility fractures. *BoneKEY reports*, 5, 846. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2016.77>